Zur Physiologie der Diatomeen

(I. Mitteilung)

von

Dr. Oswald Richter.

Aus dem pflanzenphysiologischen Institute der k. k. deutschen Universität in Prag. Nr. 80 der zweiten Folge.

(Mit 6 Tafeln.)

(Vorgelegt in der Sitzung am 11. Jänner 1906.)

Die notwendige Vorbedingung für die Beantwortung ernährungsphysiologischer Fragen über Diatomeen war deren absolute Reinkultur, d. h. deren Kultur ohne jede Bakterie. Die Bemühungen Koch's haben in Beijerinck's[1] bekannten Arbeiten über Algenkulturen Nachahmung gefunden und die interessanten Ergebnisse Artari's[2] sprechen jedem, der sich mit Algenkulturen beschäftigt, Mut zu zu dem langwierigen Beginnen der Reinkultur. Beijerinck hat zum ersten Male erst Gelatine und später Agar zur Kultur von Grünalgen verwendet, ein Verfahren, das Tischutkin[3] in der Folge auch zur Kultur von Diatomeen gebrauchte. Seine Agarlösung war eine einprozentige in Flußwasser ohne jegliche Zugabe.

»Zur Zubereitung von Kulturen nach Petri'scher Methode« wandte er »gewöhnlich nicht weniger als drei bis vier Verdünnungen in sterilem Wasser an. Hier gingen die Algen in punktförmigen Kolonien auf«. Nachdem er sich

---

[1] M. W. Beijerinck, I. Kulturversuche mit Zoochlorellen, Lichenogonidien und andern niederen Algen. Bot. Zeitg., 1890, p. 725 u. f.

[2] A. Artari, Über die Bildung des Chlorophylls durch grüne Algen. Ber. d. d. b. G., 1902, XX, p. 201.

[3] A. Tischutkin, Über Agar-Agar-Kulturen einiger Algen und Amöben. Zentr. f. B. u. P., 1897, 2. Abt., p. 183—188.

»von der Reinheit dieser Kolonien überzeugt hatte«, machte er Abimpfungen kleiner Teile derselben auf die Oberfläche von schräg erstarrtem Wasseragar oder in sterilisiertes Flußagar.

Obwohl ich keine »Diatomeenreinkulturen« Tischutkin's gesehen habe, möchte ich doch in Anbetracht der Mühe, die es macht, »absolute Reinkulturen« dieser Algen zu erhalten, behaupten, daß der genannte Forscher bloß Spezies-, aber keine bakterienfreien Reinkulturen von Diatomeen besessen hat, um so mehr, als in seiner Arbeit von dem Versuch einer Kontrolle der Reinheit durch Überimpfen auf Gelatine keine Erwähnung gemacht wird.

Der erste, der absolute, d. h. bakterienfreie, Reinkulturen von Diatomeen erzielt hat, ist Miquel.[1] Ich verweise bezüglich seiner Versuchsanstellung auf meine frühere Arbeit[2] und möchte hier einer Fußnote in einer Arbeit Beijerinck's[3] über Diatomeen gedenken, die wortgetreu mitgeteilt sein mag:

»Die ersten Reinkulturen von Diatomeen erhielt ich im Jahre 1895 bei der Isolierung des Nitritfermentes auf gewaschener Kreide und chlorammoniumhaltigem Agar. Vor kurzem hat auch Richter .... 1903 über die Reinkultur von Diatomeen geschrieben«.[4]

Indem ich selbstverständlich, wenn nötig, in der Prioritätsfrage vor Beijerinck zurücktrete, möchte ich doch bemerken, daß ich trotz eifrigen Suchens weder jene Arbeit[5] und im

---

[1] P. Miquel, I. Comptes rendus de l'Académie des sciences, t. CXIV, 28 Mars 1892, p. 780.

[2] Oswald Richter, Reinkulturen von Diatomeen. B. d. d. b. G., 1903, XXI, p. 493.

[3] Vergl. die folgende Note.

[4] M. W. Beijerinck, II. Das Assimilationsprodukt der Kohlensäure in den Chromatophoren der Diatomeen. Recueil des Travaux Bot. Neerlandais, 1904, No. 1, p. 28.

[5] Diatomeen habe ich in Beijerinck's Arbeit III. Über oligonitrophile Mikroben, Z. f. B. u. P., 1901, 7. Bd., Nr. 16, p. 561, und zwar auf p. 564 erwähnt gefunden, wo es heißt:

»Daß die Diatomeen tatsächlich einen hohen Gehalt an organisch. Stoffen ..... vertragen können, geht aus folgendem einfachen Versuche hervor: Man fülle ein hohes Zylinderglas zur Hälfte mit Gartenerde, zur andern Hälfte mit reinem Wasser, schüttle kräftig und stelle den Schlamm vor einem Fenster auf. Nach einigen Tagen oder Wochen. . . sieht man an der beleuchteten

besonderen jene Stelle in ihr gefunden habe, die mir die Gewißheit gegeben hätte, Beijerinck sei schon im Besitze absoluter Reinkulturen von Diatomeen gewesen, noch schriftliche Anfragen nach jener für mich so wichtigen Arbeit von Beijerinck beantwortet wurden.

Im Jahre 1904 ist endlich eine vorläufige Mitteilung Treboux's[1] erschienen, die auch über gelungene Reinkulturen von Diatomeen berichtet.

Man sieht eben, daß wie beim Studium der Physiologie anderer Mikroorganismen auch hier die Reinkultur als erstes Erfordernis erkannt wird und man sich daher alle Mühe gibt, die Schwierigkeiten der Reinkultur auch der Diatomeen zu überwinden. Und da es nun auch mir gelang, gewisse Diatomeen bakterienfrei zu ziehen, bin ich heute in der Lage, über einige ernährungsphysiologische Ergebnisse zu berichten, um-

---

Seite des Glases einen dunkelbraunen Belag von Diatomeen sich absetzen... Nach einigen Monaten wird der Belag mehr weniger durch Chlorophyceen ersetzt, was offenbar dann geschieht, wenn die Diatomeen selbst sowie andere Mikroben, wie Monaden und Bakterien, das für Assimilation fähige Material umgewandelt haben...«.

Endlich fand ich in M. W. Beijerinck's u. A. v. Delden's Arbeit IV. Über eine farblose Bakterie, deren Kohlenstoffnahrung aus der atmosphärischen Luft herrührt, C. f. B. u. P., X. Bd., 1903, II. Abt., p. 33, wo über die Darstellung der Kieselplatten gesprochen wird, folgende Stelle:

»Selbst Erddiatomeen, wie die Gattung *Nitzschia*, sah ich darauf in großen Kolonien wachsen« (von einem Beleg für die Reinkultur ist keine Rede). In dem Berichte über die Organismen der Nitrifikation in Nature, Vol. XLVI, 1892, p. 264, betreffend die Sitz. der Akad. der Wissensch. vom 25. Juni 1892, finde ich die Diatomeen überhaupt nicht erwähnt.

Darnach bleibt wohl die Prioritätsfrage noch in Schwebe. Sollte jedoch Beijerinck die genauen Belege zu seinen Gunsten bringen können, so glaube ich, wird man meine Meinung, nach Miquel zum ersten Male wieder Diatomeenreinkulturen besessen zu haben, entschuldbar finden, da man doch kaum verlangen kann, daß derjenige, der über Diatomeen arbeitet, in einer Arbeit etwa mit dem Titel: »Oligonitrophile Mikroben« nach der Diatomeenliteratur zu suchen hat.

Ich möchte übrigens bemerken, daß Fr. Oltmanns: Morphologie und Biologie der Algen, II. Bd., p. 387, zu meinen Gunsten entschieden zu haben scheint.

[1] O. Treboux, Zur Stickstoffernährung der grünen Pflanze. B. d. d. b. G., 1904, XXII, p. 570.

somehr, als die diesbezüglichen Experimente zu einem gewissen Abschlusse gelangt sind.

Beim Beginne dieser Arbeiten munterte mich besonders der Umstand zu einem eingehenden Studium der Ernährungsphysiologie der Diatomeen auf, als sich seit Miquel[1] meines Wissens niemand eingehend mit diesem Gegenstande beschäftigt hat und Miquel mit gewissen vorgefaßten Meinungen an die Arbeit ging, die ihn zweifellos auf eine unrichtige Fährte führen mußten. So nimmt er von vornherein an, man müsse den Diatomeen zweierlei Arten von Nahrungsmitteln geben, anorganische Salze und organische Substanzen.

»Il faut pour pouvoir cultiver les Diatomées leur donner deux genres d'aliments: des aliments salins, des aliments organiques«.[1]

Wir müssen aber heute doch annehmen, daß die Diatomeen als selbständig assimilierende Organismen die organische Ernährung nicht benötigen; ob sie gebotene organische Nahrung verwerten können, ist wieder eine andere Sache.

Abgesehen davon kann auch die Verwendung der Stammlösungen Miquel's über die Notwendigkeit des einen oder andern der anorganischen Salze keine Vorstellung geben; man vergegenwärtige sich nur deren Zusammensetzung:[2]

Formule *A*.		Formule *B*.	
Sulfat de magnesie	10 *g*	Phosphat de soude	4 *g*
Chlorure de sodium	10	Chlorure de calcium sec.	4
Sulfate de soude	5	Acide chlorhydrique pur à 22°	2
Azotate d'ammoniaque	1	Perchlorure de fer liquide à 45°	2
» de potasse	2	Eau	80
» de soude	2		
Bromure de potasse	0·2		
Jodure	0·1		
Eau	100		

Um eine Kultur passend zu mineralisieren, fügt man nach Miquel zu 1 *l* gewöhnlichen Wassers 40 Tropfen der Lösung *A* und 10 bis 20 der Lösung *B*. Doch könne in Anbetracht der andern Zutaten, die ja selbst die Mineralbestandteile enthielten, das Mineralisieren auch unterbleiben.

---

[1] P. Miquel, II. De la culture artificelle des diatomées. Le diatomiste, Bd. I, 1892, p. 94.

Ich brauche wohl kaum eigens hervorzuheben, daß so komplizierte Nährlösungsrezepte, in die sogar Brom- und Jodverbindungen noch mitaufgenommen sind, auch über die Ernährungsphysiologie der Kulturpflanzen keine bestimmten Aufschlüsse geben konnten und daß alle Ergebnisse damit bloß die Frage nach der Förderlichkeit oder Schädlichkeit, nicht aber nach der Notwendigkeit eines Stoffes zu beantworten vermochten. Dazu bedurfte es gewiß genauerer Methoden.

Ich hebe die oben erwähnte Fähigkeit der Kieselalgen, ohne organische Substanzen auszukommen, entgegen Miquel nochmals hervor, da sich Benecke[1] im Anschluß an Miquel's Experimente und in Anbetracht seiner Erfahrungen mit farblosen und braunen Diatomeen für die Notwendigkeit derselben ausspricht. So sagt er an einer Stelle bei Besprechung der Befunde Miquel's:

»Wir können dies nach den heutigen Erfahrungen erweitern und sagen, daß offenbar irgend welches Nährelement aus organischer Quelle zuströmen muß; es braucht dies nicht notwendig Stickstoff zu sein; bei Diatomeen wäre neben andern auch an die Kieselsäure zu denken.«

Es wird sich also in der folgenden Arbeit zunächst darum handeln, über die anorganische Ernährung der Kieselalgen einige Klarheit zu bringen, worauf dann auf die Fähigkeit, auch gebotene organische Nahrung zu assimilieren, genauer eingegangen werden soll.

In ernährungsphysiologischer Beziehung beansprucht das meiste Interesse die Frage nach der Notwendigkeit der Kieselsäure für das Gedeihen der Diatomeen.

Bereits auf der Naturforscherversammlung in Breslau hatte ich Gelegenheit,[2] über eine ganze Reihe von Versuchen zu

---

[1] W. Benecke, Über farblose Diatomeen der Kieler Föhrde. Pringsh. Jahrb., 1900, 35. Bd., p. 567.

[2] Oswald Richter, Über Reinkulturen von Diatomeen und die Notwendigkeit der Kieselsäure für *Nitzschia Palea* (Kütz.) W. Sm. Verh. der Gesellschaft deutscher Naturf. u. Ärzte, 76. Versammlung zu Breslau 1904. II. T., 1. Hälfte, p. 249, Ref. Naturw. Rundsch., 1904, XIX. Jahrg., p. 623.

berichten, welche die Notwendigkeit der Kieselsäureernährung bei Kieselalgen sehr wahrscheinlich machten. Immerhin wollte ich erst noch mehr Erfahrungen gesammelt und eine größere Anzahl von Versuchen auch in der folgenden Vegetationszeit angestellt haben, ehe ich mit meinen Ergebnissen in einer ausführlichen Arbeit an die Öffentlichkeit trat. Diese Vorsicht erschien mir um so ratsamer, weil meine diesbezüglichen Befunde mit keiner der bisherigen Erfahrungen übereinstimmen und weil sie mich zwingen, das SiO_2, das sonst für nicht notwendig für die Ernährung galt, vorläufig für eine Kieselalge als notwendigen Nährstoff zu erklären. Diese Experimente sind nun, wie gesagt, zu einem gewissen Abschlusse gediehen und sollen in der Weise wiedergegeben werden, daß immer kapitelweise zuerst die Versuchsergebnisse im Zusammenhange graphisch dargestellt und nachher die wichtigsten Resultate in Worte gefaßt werden.

I. Die Notwendigkeit der Kieselsäure für die Diatomee Nitzschia Palea (Kütz.) W. Sm.

Meine Versuchsanstellung bei der Überprüfung der Frage nach der Notwendigkeit der Kieselsäure für Diatomeen lehnt sich an die von Molisch[1] für die Kultur von Grünalgen verwendete an. Damals handelte es sich Molisch darum, den Einfluß des K und Ca auf die Ernährung der Algen zu überprüfen, wobei die zu überwindende Schwierigkeit darin lag, Gefäße herzustellen, bei deren Verwendung von einer Lösung der genannten Substanzen aus den Kulturgefäßen auch bei monatelangem Stehen nicht die Rede sein konnte.

Platingefäße waren wegen des hohen Preises von vornherein als Kulturgefäße ausgeschlossen, auch mußte man bei ihnen wie bei solchen aus Nickel die oligodynamische Wirkung[2]

---

[1] H. Molisch, I. Die Ernährung der Algen I. Sep. Abdr. aus diesen Sitzungsberichten, Bd. CIV, Abt. I, Okt. 1895, p. 8.

[2] C. v. Nägeli, Über oligodynamische Erscheinungen in lebenden Zellen. Mit einem Vorwort von S. Schwendener und einem Nachtrag von C. Cramer, Basel (Denkschr. der schweiz. naturf. Gesellsch., Bd. XXXIII, 1893), Ref. Bot. Zeitg., 1893, Nr. 22, p. 337—343.

mit in Betracht ziehen. Schließlich fand Molisch in seinen Versuchen Erlenmeyer-Glaskolben am geeignetsten, die er innen mit Paraffin auskleidete, eine Methode, die den an sie gestellten Anforderungen so vorzüglich entsprach, daß in der Kulturflüssigkeit in einem Paraffinkölbchen, in das zwischen Paraffinauskleidung und Glaswand ein Stückchen Zucker gegeben worden war, nach zwei Monate langem Stehen noch keine Spur von Zucker nachgewiesen werden konnte. Ebenso blieben etliche KCl-Kristalle, analog isoliert, trotz der leichten Löslichkeit dieses Salzes hinter Paraffin ungelöst.[1]

a) Orientierende Versuche.

Indem ich nun gleich vorwegnehme, daß ich mich der Versuchsanstellung von Molisch erst bei meinen entscheidenden Versuchen über den Einfluß der Kieselsäure auf die Diatomeen bediente, erlaube ich mir, einige Tabellen von Vorversuchen vorauszuschicken, da sie geeignet scheinen, bereits die Möglichkeit eines Kieselsäurebedürfnisses dieser Algen nahe zu legen.

Die mitzuteilenden Tabellen dürften ohne Schwierigkeit die Versuchsergebnisse klar machen, wenn man die Zeichenerklärung auf Tafel IV berücksichtigt.

Wo eine (innere) Paraffinauskleidung durchgeführt wurde, unterblieb selbstverständlich eine neue Sterilisation der eingefüllten Kulturflüssigkeit. Über die dadurch bedingten Versuchsfehler vergl. die Beschreibung der Versuchsanstellung bei den »entscheidenden Versuchen etc.«.

1. Die tabellarische Zusammenstellung der Ergebnisse

findet sich auf Tafel I und II.

Tafel I bringt die Vorversuche I bis III,

Tafel II die Vorversuche IV und V.

2. Zusammenfassung der Ergebnisse der Vorversuche 1 bis 4.

1. Alle Versuche lehren übereinstimmend, daß die Diatomee *Nitzschia Palea* in anorganischer Nährlösung nur dort

[1] H. Molisch, I., l. c. p. 8.

zur Entwicklung kommt, wo sie mit SiO_2, sei es als Calcium-, Kalium-, Natriumsilikat, sei es als Kiesel oder Glas, in Berührung kommen kann. Es genügt somit, sie in Glasgefäßen ohne absichtlichen Kieselsäurezusatz zu kultivieren, da die Diatomeen sich die notwendige Quantität dieses Stoffes aus der Wand der Kulturgefäße nehmen. So erklärt es sich auch, warum ich bei den Stammlösungen für das Kulturagar und die Kulturgelatine in meiner früheren Arbeit die Zugabe von Kieselsäure unterlassen konnte; es enthält eben sowohl das Agar — man beachte die Unmengen von Diatomeenpanzern in demselben — als auch die Gelatine so viel des nötigen Stoffes, daß die Diatomeen ihr Auslangen damit finden. Verascht man daher Diatomeen aus den Kölbchen mit und ohne Kieselsäurezusatz, so findet man Kieselpanzer, doch erweisen sich die jener Diatomeen, die sich den Kieselsäurebedarf erst aus den Glaswänden der Kulturgefäße beschaffen mußten, viel zaıter als die Panzer derer, denen SiO_2 freiwillig in großer Menge zur Verfügung gestellt wurde (vergl. »Glimmerproben« im zweiten Vorversuch, Tafel I).

2. Es erscheint nicht gleichgültig, in welcher Form das SiO_2 der *Nitzschia Palea* geboten wird; am besten bewährte sich $CaSi_2O_5$. Um die schwer löslichen Stücke dieses Salzes bilden sich sozusagen braune Inseln. Die Diatomeen heften sich förmlich an diese »Lebensquellen«, um sich später bei weiterer Lösung des Stoffes über den ganzen Boden der Kulturgefäße zu verteilen (vergl. auch p. 84).

3. Aber auch die verwendeten Konzentrationen der dargebotenen Silikate sind von Belang. Ein Zusatz von 0·01% $K_2Si_2O_5$ zur Nährlösung bedingt ein prächtiges Wachstum, der von 0·05% läßt überhaupt keines mehr zu. Überprüft man diese unvorteilhafte Lösung, so erweist sie sich als ungemein stark alkalisch. Dieselbe Konzentration von $Na_2Si_2O_5$ schädigt dagegen noch nicht.

4. Die Reaktion der Nährlösung ist von ausschlaggebender Bedeutung. Die von Molisch für die Kultur von Grün- und Blaualgen und für Diatomeen schon von Miquel, später von Karsten[1] und mir aufgestellte Forderung einer

[1] Auf die Literatur wird später noch eingegangen werden.

schwach alkalischen Reaktion der Kulturflüssigkeit hat auch in diesen Versuchen ihre Bestätigung gefunden. Ein Zuviel ist hier ebenso von Nachteil wie ein Zuwenig. Saure Reaktion vertragen die Diatomeen überhaupt nicht. Der Zusatz von Magnesium-, Ammoniumfluosilikat, saurem Calciumphosphat zur Nährlösung machte daher eine Entwicklung der Alge unmöglich.

5. Die Lichtintensität hat einen hervorragenden Anteil am Gelingen der Versuche.

6. Das Ca, dessen Verhalten bei der Ernährung von Diatomeen in Anbetracht der Beobachtungen von Molisch an Grünalgen ein besonderes Interesse bietet, schien förderlich, ohne notwendig zu sein. Doch darüber sowie über die Bedeutung des Lichtes für die Diatomeen mag später berichtet werden.

Das Wesentlichste der Ergebnisse war also bisher die anscheinend erwiesene Abhängigkeit der Diatomee *Nitzschia Palea* vom Vorhandensein der Kieselsäure und die möglicherweise vorhandene Unabhängigkeit vom Ca als Nährstoff.

Um so unangenehmer war ich anfänglich überrascht über den Ausfall des folgenden Versuches.[1]

3. Ein anscheinend widersprechender Versuch.

(5. Vorversuch auf Tafel II.)

Der Unterschied in der Versuchsanstellung gegen sonst lag in der Verwendung der wichtigsten Kalksalze anderer Säuren neben dem $CaSi_2O_5$. Alle Kölbchen, ausgenommen die der ersten zwei Kolonnen, die lediglich zur Kontrolle dienten, waren mit einer Paraffinauskleidung versehen.

---

[1] Das Paraffin wirkt an und für sich nicht giftig auf die Diatomeen. Es ist gleichgültig, ob bei 48°, 52° oder 72° schmelzendes Paraffin verwendet wird, es ist auch gleichgültig, ob es in Stücken in die Nährlösung eingetragen wird oder ob es als Wandbelag einer Temperatur von 80°, 100° oder 142° ausgesetzt worden war. Eine solche Untersuchung war um so angezeigter, als ja die oligodynamische Wirkung vieler Stoffe auf Algen bekannt ist. Vergl. p. 32, Note 2.

Waren nun zwar, wie auch die Photographie (Fig. 1) zeigt, — zwischen der photographierten $CaSO_4$-Kultur und den Kulturen mit den andern Ca-Salzen waren nur relativ geringe Differenzen zu bemerken — zwischen den $CaSi_2O_5$-Kulturen und denen der andern Ca-Salze ganz erhebliche Unterschiede, so ließ sich doch das Aufkommen und Gedeihen in den »SiO_2«-freien Kölbchen nicht wegleugnen und die Notwendigkeit der SiO_2 war fraglicher geworden denn je. Im gleichen Grade rückte die Möglichkeit näher, daß es gelingen könnte, Kieselalgen ohne Kieselsäure zu ziehen.

Wesentlich für die Beurteilung dieses Versuchsergebnisses scheint mir die Tatsache zu sein, daß ich die gesamte Stammlösung vor dem Aufteilen auf die Paraffinkölbchen in einem großen Zweiliter-Glaskolben ohne Paraffin im Dampfsterilisator sterilisierte, in der Meinung, auf diese Weise Keime von Pilzen, Bakterien und Algen möglichst ausschließen zu können. Es war also noch immer die Möglichkeit vorhanden, daß jene Spuren von SiO_2, die sich im gewöhnlichen destillierten Wasser finden, und im besonderen die, die während des zweistündigen Aufenthaltes der Nährlösung im Sterilisator von der Flüssigkeit gelöst worden waren, ausgereicht hatten, um jenes kümmerliche Gedeihen der Versuchsalge zu ermöglichen. Es sei noch betont, daß selbst am 15. Juli 1904, also $2^1/_2$ Monate nach der zweifellosen Feststellung des Wachstums in den $CaCO_3$-, $CaCl_2$-, $CaSO_4$- und $Ca(NO_3)_2$-Kölbchen nur ein ganz geringer Fortschritt in der Entwicklung konstatiert werden konnte.

Endlich sei erwähnt, daß das Nichtaufkommen in Kölbchen mit Calciummalat und saurem Calciumphosphat einen Beleg mehr für die Bedeutung der alkalischen Reaktion für das Fortkommen der Diatomeen liefert.

Zum Schlusse sei auf die graphische Darstellung dieses wichtigen Versuches verwiesen, der es nun für unumgänglich nötig erscheinen ließ, mit den von Molisch[1] verwendeten Vorsichten, Destillation des destillierten Wassers über Platin, Verwendung mehrfach umkristallisierter, reiner Salze u. s. f., die Frage nach der Notwendigkeit der Kiesel-

[1] H. Molisch, I., l. c., p. 8.

säure zum Gedeihen der *Nitzschia Palea* neuerdings in Angriff zu nehmen.

b) Entscheidende Versuche über die Notwendigkeit der Kieselsäure für das Gedeihen der Nitzschia Palea.

Versuchsanstellung.

1. Vorbereitungen:

α. Destillation. In Anbetracht der Tatsache, daß, wie Stas[1] und Molisch[2] gezeigt haben, auch das gewöhnliche destillierte Wasser noch so viele Aschenbestandteile enthält, daß Algen darin ganz gut gedeihen können, wurde das destillierte Wasser neuerlich destilliert. Dazu benützte ich Jenenser Glaskolben, die mittels eingeriebener Glasstöpsel mit einem Platinkühler in Verbindung standen, von dem das kondensierte Wasser in einen 400 cm^3-Kolben, der mit Paraffin bis zum oberen Rand ausgekleidet war, abtropfte. War dann das Kölbchen bis etwa zu 300 bis 350 cm^3 gefüllt, so schüttete ich das dest. dest. Wasser in einen mit Paraffin völlig ausgekleideten Zweiliter-Erlenmeyerkolben. Ein Wattapfropf aus reinster Watte besorgte dessen Verschluß. War im »Siedekolben« noch etwas zur Destillation bestimmtes Wasser übriggeblieben, so wurde es ausgeschüttet und der Kolben bis zu 350 bis 400 cm^3 neu gefüllt. Um einen Siedeverzug zu vermeiden, befand sich ein Stück Platindraht im Kochkolben. Hervorgehoben sei noch, daß alle für die Destillation verwendeten Geräte, also Destillationskolben, Platinkühler, Vorstoßkolben, Stöpselvorstoß, der große Zweiliter-Vorratskolben mit Kalilauge und darauf mit konzentrierter Salzsäure gereinigt und mit viel gewöhnlichem destillierten Wasser abgespült worden waren. Jene Kolben und Objekte, die mit Paraffin ausgekleidet werden sollten, waren nachher im heißen Trockenkasten auf 110 bis 140° erhitzt und so vollkommen wasserfrei gemacht worden — eine Vorsicht,

[1] J. S. Stas, Untersuchungen über die Gesetze der chemischen Proportionen etc. Leipzig 1867, p. 110 (deutsche Übersetzung von Aronstein).

[2] H. Molisch, II. Die Pflanze in ihren Beziehungen zum Eisen; eine physiologische Studie. Jena 1892, p. 81 und 106.

die schon Molisch[1] für notwendig erklärte und deren Beachtung nicht oft genug betont werden kann; — dann hatte ich sie mit reinstem Paraffin des Siedepunktes 78° von Merck versehen und neuerlich über 100°, oft bis 140° erhitzt. Nach dem Abkühlen war dann das Paraffin durch Drehen der Gefäße längs deren Wände und am Boden derselben zum Erstarren gebracht worden. Dabei war der große Kolben mit dem Wattabausch verschlossen gewesen. In ganz analoger Weise sind auch die kleinen Versuchskölbchen von früher behandelt worden.

Das Überfüllen des dest. dest. Wassers geschah mit der größten Vorsicht und möglichst rasch. Ebenso war bei der Destillation durch Überhängen eines weißen Papiers so gut wie möglich für das Fernhalten der Luftkeime und des Luftstaubes gesorgt worden.

β. Herstellung der Nährlösung (Stammlösung). Das Abmessen der Flüssigkeit geschah in Meßzylindern, die ebenso wie die Kolben vorbehandelt und völlig mit Paraffin ausgekleidet waren. Auch hier wurde möglichst rasch und vorsichtig gearbeitet, um ein Hereinfallen von Keimen nach Tunlichkeit auszuschließen.

Durch diese Versuchsanstellung wurde bewerkstelligt, daß das Wasser seit seiner Kondensation mit keiner Glaswand und somit mit keiner Kieselsäure in Berührung kam.

Die Nährsalze waren entweder von Merck mit der Marke »purissimum pro analysi« oder noch jene mühsam und etliche Male umkristallisierten, die Molisch bei seinen Eisen-,[2] Pilz-[3] und Algenarbeiten[4] gebrauchte. Wie sehr ich Herrn Prof. Dr. H. Molisch gerade dafür, daß er mir die Erlaubnis zur Benützung dieser Substanzen gab, zu Dank verpflichtet bin, wird jeder ermessen können, der solche zeitraubende Er-

---

[1] H. Molisch, I., p. 8.

[2] H. Molisch, II., l. c., p. 106 bis 109.

[3] H. Molisch, III. Die mineralische Nahrung der Pilze, I. Abhandlung. Diese Sitzungsber., Bd. CIII, Abt. I, 1894, p. 554.

[4] H. Molisch, I., l. c., p. 8. — IV. Die Ernährung der Algen. Süßwasseralgen. (II. Abhandlung.) Ebenda, Bd. CV, Abt. I, Oktober 1896.

nährungsversuche einmal hat durchführen müssen. Die Materialien aus der Sammlung von Prof. Molisch wurden in den Tabellen mit Sternchen bezeichnet. Die Verbindungen Kalium- und Calciumsilikat entsprachen nahezu den Formeln $K_2Si_2O_5$ und $CaSi_2O_5$, wie aus dem mir freundlich erteilten Bescheid der Firma Merck hervorgeht. Es sei mir gestattet, auch an dieser Stelle sowohl der ausgezeichneten Qualität der Reagenzien zu gedenken als auch dem Leiter der Firma für die meine Anfrage betreffenden Analysen meinen besten Dank auszusprechen.[1]

Bei der Wahl der Gewichtsmengen der verwendeten Salze waren für mich selbstverständlich die seinerzeit von Molisch[2] angeführten Erwägungen maßgebend, da ich vor einer ganz ähnlichen Schwierigkeit stand. Deshalb wurde die Konzentration der Lösung möglichst verdünnt gewählt, von KNO_3 und PO_4K_2H nur 0·2 *g*, von $MgSO_4$ bloß 0·05 *g* für den Liter Flüssigkeit genommen. Sollte den Salzen dennoch etwa durch das Stehen in den Versandglasgefäßen durch die Berührung einzelner Stückchen mit den Glaswänden etwas SiO_2 angehaftet haben, so wurde diese wohl unwägbare Spur auf 1 *l* Wasser aufgeteilt und die eventuelle Fehlerquelle dürfte als ziemlich ausgeschaltet betrachtet werden können.

Um das unliebsame Ausfallen des Magnesiumphosphates zu verhindern, löste ich die betreffenden Salze in verschiedenen

---

[1] Die betreffenden Stellen aus den mir zugesendeten Briefen lauten: »Kalium silicic. pur. sicc. wird entsprechend der Formel $K_2Si_2O_5$ dargestellt. Die Prüfung des soeben abgelieferten Calcium silicicum ergab folgende Zusammensetzung:

Glühverlust (H_2O und Spuren CO_2)....	25·44%
SiO_2	56·19
CaO	17·94

Daraus läßt sich annähernd die Formel $CaSi_2H_4O_7 = CaSi_2O_5 + 2H_2O$ berechnen. Für eine stets genau gleichbleibende Zusammensetzung kann bei diesem Präparate natürlich keine Gewähr geleistet werden, da das Ausgangsmaterial im Kieselsäuregehalte nicht immer ganz gleich ist und besonders auch deshalb, weil das fertige Calcium silicicum unter dem Einfluß der Luft und Feuchtigkeit sich leicht verändert und CO_2 aus der Luft aufnimmt.«

[2] H. Molisch, I und IV, l. c.

paraffinierten Gefäßen und goß erst die Lösungen vorsichtig zusammen.

2. Die eigentliche Versuchsanstellung.

Wie ein Blick auf die Tabellen lehrt, wurde bei allen Versuchen darauf ausgegangen, sowohl den Einfluß des SiO_2 sowie den des Ca auf das Wachstum der Diatomeen aufzuklären; deshalb also die acht Kolonnen, von denen die Kölbchen der ersten weder Ca noch SiO_2 enthielten. Ebenso befand sich in denen der achten in der Stammlösung keiner dieser Stoffe, dagegen hatte ich $CaSi_2O_5$-Stücke unter Paraffin in den Paraffinwänden derselben Kulturgefäße eingeschlossen, eine etwas veränderte Wiederholung der oben angeführten Versuche von Molisch mit Zucker- und KCl-Kristallen. Alle Salzzusätze wurden einheitlich mit 0·01% gewählt. Die Kolonnen 3 bis 6 erhielten Ca-Salze der verschiedenen anorganischen Säuren, Kohlen-, Salz-, Salpeter- und Schwefelsäure und kein SiO_2. Aus früher bereits erörterten Gründen, Erzeugung einer sauren Reaktion in der Nährlösung u. s. f., wurden Kolonnen mit saurem Calciumphosphat u. dergl. nicht erst eingerichtet, in der Kolonne 2 dagegen fehlte das Calcium, dafür enthielt aber jedes Kölbchen 0·01% $K_2Si_2O_5$. Von den Kölbchen der Kolonne 7 endlich erhielt jedes beide Nährstoffe, das Ca sowohl wie das SiO_2, als $CaSi_2O_5$.

Jede Kolonne enthielt drei Kölbchen *A*, *B*, *C*, so daß also ein Versuch aus 24 Kölbchen bestand.

Alle Kölbchen waren gleich groß und so gewählt, daß bei Verwendung von 100 cm^3 Nährlösung gerade die Niveauhöhe von $1^1/_2$ *cm* erreicht wurde.

Alle Kölbchen waren, wie früher erwähnt, innen paraffiniert worden, konnten also nicht nach Füllung und nach der Lösung der Nährsalze neu sterilisiert werden. Es blieb bei allen Experimenten dieser Art die Gefahr der Infektion durch anfliegende Keime. Daß ihrer sich nach monatelangem Stehen der Versuche auch mitunter welche einfanden, zeigen die betreffenden Zeichen in den Tabellen.

Um aber ja diese unangenehme Möglichkeit nach Tunlichkeit zu beschränken, wurden die notwendigen Handhabungen,

wie Überfüllen, Einschütten, Abwägen u. s. f., entweder in Zimmern ausgeführt, wo sehr selten jemand hinkam, die Luft also sehr wenig bewegt war, oder aber, wo dies unmöglich wurde, am Tage vor dem Eintragen der Salze der Fußboden waschen gelassen oder endlich alle Prozeduren in der Nacht besorgt, so daß ich bezüglich der Aufwirbelung von Staub ziemlich beruhigt sein konnte. Die Befestigung erfolgte an einem Nordfenster an Drähten. Bei sehr grellem Tageslichte wurde mit weißem durchscheinenden Papiere abschattiert.[1]

Nachdem ich beim Versuche vom 13. Mai 1904 ein eindeutiges Resultat erhalten hatte, dahin lautend, daß sich die Diatomeen nur in den $CaSi_2O_5$-Kölbchen entwickelt hatten, wurde noch derselbe Versuch dazu benützt, eine Kontrolle der Frage nach der Notwendigkeit des Ca und des SiO_2 abzugeben. Es erhielten daher alle ersten Kölbchen der Kolonnen 3 bis 6 0·01% $K_2Si_2O_5$ als Zusatz, *A* der Kolonne 2 aber 0·01% $CaCO_3$, worauf neu geimpft wurde. Da ich mir später den Einwand machte, es könnte doch durch das lange Stehen die Paraffinauskleidung besonders in der Kolonne 2 gelitten haben und dadurch sich das etwas unklare Resultat gerade in dieser Kolonne erklären, habe ich beim letzten Versuche gleich von vorneherein diesen Folgeversuch mit dem Gesamtversuche verquickt. Darnach resultieren für dieses Experiment vier Kölbchen in einer Kolonne, von denen immer die Kölbchen Nr. 1 einen $K_2Si_2O_5$-Zusatz von 0·01% erhalten haben.

Nach diesen einleitenden Bemerkungen dürften die Versuchsergebnisse, bei denen ich dieselbe Bezeichnungsweise wie früher angewendet habe (p. 33), unschwer verständlich sein (vergl. die graphische Darstellung auf Taf. II).

3. Zusammenfassung der Ergebnisse der entscheidenden Versuche über den Einfluß der Kieselsäure auf das Gedeihen der *Nitzschia Palea*.

1. Die Diatomee *Nitzschia Palea* entwickelt sich überall dort nicht, wo die Diatomeenimpfmasse keine Möglichkeit hat,

[1] Auf diese Weise erspart man sich die Verwendung der von Miquel, II., l. c., p. 123, empfohlenen Gestelle, Lichtschirme und Vorhänge.

mit SiO_2 in Berührung zu kommen, sie entwickelt sich aber ausgezeichnet in den Kölbchen mit $CaSi_2O_5$-Zusatz.

2. Ebenso günstig scheint die Verbindung von Ca-Salzen verschiedener Säuren mit $K_2Si_2O_5$ zu wirken.
3. Kaliumsilikat ohne Ca ermöglicht im letzten Versuche die Entwicklung nicht.

Daraus läßt sich schließen, daß zur Entwicklung der Diatomee *Nitzschia Palea* Kieselsäure absolut notwendig ist und daß sie Ca höchstwahrscheinlich gleichfalls benötigt. Es ist dies der erste Fall, wo nachgewiesen wird, daß SiO_2 für irgend eine Pflanze einen notwendigen Nährstoff bildet.

c) Historisches über die Notwendigkeit der Kieselsäure.

1. Für Diatomeen.

Die Meinungen, die man sich bisher oft auf Grund der Beobachtungen an den Membranen oder auf Grund von Analogieschlüssen über diesen Punkt gebildet hat, gehen sehr stark auseinander.

Während sich eine größere Anzahl von Forschern mit Rücksicht auf die ganz eigentümliche Ausstattung der Kieselalgen sehr reserviert ausdrückt:

Molisch:[1] »Ob die Diatomeen nicht vielleicht im Gegensatze zu den anderen Algen für den Aufbau ihrer Zellhaut die Kieselsäure benötigen, vermag ich vorläufig nicht zu sagen, da es mir bisher nicht gelingen wollte, die Diatomeen im Laboratorium gut zu kultivieren«;

Pfeffer:[2] »Für die besonders kieselsäurereichen Diatomeen und Schachtelhalme ist der Beweis für die Entbehrlichkeit der Kieselsäure bis dahin nicht sicher erbracht«;

Jost:[3] »Über die Nützlichkeit oder Entbehrlichkeit der Kieselsäure bei den Schachtelhalmen und Diatomeen sind wir gänzlich unorientiert«,

---

[1] H. Molisch, IV., l. c., p. 633, erste Fußnote.

[2] W. Pfeffer, Pflanzenphysiologie. 2. Aufl., Leipzig 1897, p. 430.

[3] L. Jost, Vorlesungen über Pflanzenphysiologie. Jena 1904, p. 107.

neigen auf der einen Seite Meyer[1] und Oltmanns[2] zu der Ansicht, die Kieselsäure dürfte sich für die Diatomeen als notwendig herausstellen:

Meyer:[1] »Ob die Schachtelhalme der Kieselsäure entbehren können, ist ungewiß; ob die Kieselpanzer, die Diatomeen, dies können, natürlich ziemlich unwahrscheinlich«;

Oltmanns:[2] »Nur die Diatomeen werden kaum ohne Silicium auskommen können. Experimente freilich, welche die Unentbehrlichkeit des Si dartun, sind nicht vorhanden. Man weiß nur, daß Plankton-Diatomeen der Hochsee häufig einen sehr dünnen Kieselpanzer führen.«

Auch scheinen mir gewisse Erfahrungen Miquel's[3] als Stütze dieser Anschauung gelten zu können:

»Wenn man z. B. eine überreichliche Entwicklung der kleinen gewöhnlichen *Nitzschia* wünscht, wird man«, meint Miquel, »zu den Mazerationsflüssigkeiten einige Dezigramm gelatinöser Kieselsäure zusetzen...« Ebenso wird das schwer lösliche Ca-Silikat empfohlen.

Dagegen freilich hat er mit leicht löslichen Silikaten traurige Erfahrungen gemacht.[4] Ich komme bei Besprechung der Reaktion der Nährlösung darauf nochmals zurück.

Auf der anderen Seite steht es für Kohl[5] zweifellos fest, daß die Kieselsäure ebenso wie für höhere Pflanzen auch für Diatomeen nicht zu den unbedingt notwendigen Nährstoffen gehört. Hier einige Bemerkungen von ihm, die diese Anschauung dartun sollen:

p. 198: »Wenn nun auch der experimentelle Beweis der Entbehrlichkeit der SiO_2 für an dieser Substanz besonders reiche Pflanzen, wie Equiseten, Diatomeen etc., bisher wegen der Schwierigkeit, diese Pflanzen künstlich zu ziehen, noch nicht hat erbracht werden können, so dürfen wir doch nach Analogie schließen, daß auch für sie wie für die beliebig gewählten Versuchspflanzen die Kieselsäure nicht zu den unbedingt nötigen Nährstoffen gehört.«

---

[1] A. Meyer, Die Ernährung der grünen Gewächse. Heidelberg 1895, p. 268.

[2] Fr. Oltmanns, l. c., 2. Bd., p. 137.

[3] P. Miquel, II., l. c., p. 127 und 154.

[4] P. Miquel, II., l. c., p. 119.

[5] Fr. G. Kohl, Anatomisch-physiologische Untersuchung der Kalksalze und Kieselsäure in der Pflanze. Marburg 1889, p. 244.

p. 245: »...während aber die Diatomeen« (er zieht hier den Vergleich zwischen F_2O_3 und SiO_2) »sicher (!) auch ohne Kieselsäure zu leben vermögen, ruft Eisenmangel im Wasser den sofortigen Untergang von Eisenbakterien hervor.«

Meine Versuche stimmen mit diesen Anschauungen Kohl's durchaus nicht überein, ja widersprechen ihnen geradezu, so daß ich unseren Befund neuerdings wiederholen und folgendermaßen präzisieren möchte:

Bisher war bekannt, daß die höhere grüne Pflanze die zehn Nährelemente brauche: C, H, O, N, P, S, Ca, K, Mg und Fe. Molisch[1] und nach ihm Löw[2] konnten für niedere Grünalgen, Vertreter der Familien der Protococcaceen, Palmellaceen, Chaetophoraceen und Ulotrichaceen, nachweisen, daß Ca für das Gedeihen dieser Algen überflüssig ist, und Benecke[3] bestätigte dies.

Jetzt aber zeigt es sich, daß eine Vertreterin einer großen Gruppe von Algen, der Diatomeen oder Kieselalgen, Kieselsäure zu ihrem Gedeihen notwendig braucht. Dieses Ergebnis hätte mit Rücksicht auf die materielle Zusammensetzung der Membran nicht überraschen brauchen. Immerhin schien mir die Tatsache so ungewohnt, daß ich Mühe hatte, mich mit ihr zu befreunden und der immer wiederkehrende Gedanke an einen möglichen Irrtum hielt mich so lange zurück, dieselbe endgültig zu vertreten.

Es drängt sich nun unwillkürlich die Frage auf: »Wozu brauchen die Diatomeen die Kieselsäure?« Und diese Fragestellung führt uns sofort auf das vielumstrittene Gebiet der Membranbildung der Diatomeen und der Frage nach deren chemischen Beschaffenheit (vergl. p. 34).

---

[1] H. Molisch, I., l. c., 1895, p. 12.

[2] O. Löw, Bemerkung zur Giftwirkung oxalsaurer Salze. Bot. Zentr., 1895, LXIV., p. 434. — Nachtrag über das Kalkbedürfnis der Algen. Ebenda, p. 433. — Über die physiologischen Funktionen der Calciumsalze. Ebenda 1898, LXXIV., p. 257.

[3] W. Benecke, Über die Kulturbedingungen einiger Algen. Bot. Zeitg., 1898, 56, p. 83.

In Kohl's[1] zitiertem Werke wird Pfitzer[2] als derjenige genannt, der bereits für eine Anzahl Diatomeen die Frage beantwortet habe. Nach Pfitzer[2] bleibe nach Entfernung des Kieselgehaltes durch Flußsäure die organische Grundlage als zarte, biegsame Haut übrig, welche ihrer Substanz nach aus einer Modifikation der Zellulose bestehe, die mit J auch bei Einwirkung quellungserregender Stoffe, wie H_2SO_4 etc., sowie nach vorgängiger Behandlung mit KOH und HNO_3 und $KClO_3$ nur braungelb, nicht blau wird.

Auch Sachs[3] kam auf Grund der Untersuchungen von Mohl[4] zu einer ähnlichen Auffassung. Die gleiche Anschauung vertritt Oltmanns.[5] Kohl[6] konnte diese Angaben Pfitzer's bestätigen und nahm an, daß die Membran in Fällen, in welchen von ihr nach der Flußsäurewirkung nichts mehr übrig bleibt, so stark verkieselt wäre, daß eine zusammenhängende Haut nicht mehr zurückbleiben könne. Nach Strasburger[7] ist ebenso »von der Membran« der *Pinnularia* nach Flußsäurebehandlung »nichts zu bemerken«.

Daß die Kieselsäure ein- und nicht etwa aufgelagert sei, geht nach Kohl[8] aus dem optischen und chemischen Verhalten der Schalen ohneweiters hervor und seine sonstigen Erfahrungen über Verkieselung legten ihm die Ansicht nahe, daß auch in den Diatomeenpanzern die Kieselsäure als solche und nicht als organische Kieselverbindung eingelagert sei.

Ich bin natürlich weit entfernt, diese Anschauung als unrichtig hinstellen zu wollen, doch scheint mir in Anbetracht

---

[1] Fr. G. Kohl, l. c., p. 244.

[2] E. Pfitzer, Die Bacillariaceen (Diatomaceen). Schenk's Handbuch der Botanik, Breslau 1882, p. 410.

[3] J. Sachs, Ergebnisse einiger neueren Untersuchungen über die in Pflanzen enthaltene Kieselsäure. Flora 1862, XX. Jahrg., p. 33.

[4] H. v. Mohl, Über das Kieselskelett lebender Pflanzenzellen. Bot. Zeitg., 1861, p. 209 u. f.

[5] Fr. Oltmanns, l. c., I., p. 102.

[6] Fr. G. Kohl, l. c., p. 245.

[7] E. Strasburger, Das botanische Praktikum. 3. Aufl., Jena 1897, p. 370.

[8] Fr. G. Kohl, l. c., p. 245.

meiner Versuchsergebnisse jene Erklärung von der unzusammenhängenden Haut gezwungen und viel zweckentsprechender ersetzt durch die schon von Meyer[1] auf Grund der Versuche von Friedel und Ladenburg[2] angedeuteten Annahme, daß ebenso etwa, wie die Zellulose im Stoffwechsel höherer Pflanzen entsteht, sich bei der *Nitzschia Palea* organische Kieselsäureverbindungen bilden, welche die Rolle der Membranzellulose übernehmen könnten. Widersinnig erschiene diese Annahme schon deshalb nicht, weil eben aus den herangezogenen Untersuchungen speziell vom Si bekannt ist,[2] daß es ebenso wie der C eine Unzahl organischer Verbindungen einzugehen im stande ist. Es wäre somit möglich, daß beim Entzug der Kieselsäure der normale Stoffwechsel nicht vor sich gehen könnte, weshalb kieselsäurefrei gezogene Diatomeen absterben müßten.

Es wäre gewiß eine dankbare Arbeit für einen Chemiker, der Frage nach der Bindung des Si in der Diatomeenschale mit Rücksicht auf die neuesten Erfahrungen über die Notwendigkeit dieses Stoffes für das Gedeihen einer Diatomee näher zu treten. Aber auch für den Mikrochemiker dürfte sich noch allerhand Bemerkenswertes ergeben, da vorläufig nach Oltmanns[3] feststeht, daß sich verschiedene Kieselalgen verschieden verhalten, indem es welche gibt, bei denen die »organische Grundlage«, und welche, bei denen die Siliciumverbindung zurücktritt.

Auch hat Schütt[4] nachgewiesen, daß bei der Diatomee *Cyclotella socialis* Büschel auftreten, die von der Membran aus-

---

[1] A. Meyer, l. c., p. 271 Anm. und p. 11 Anm.

[2] Friedel und Ladenburg, Berichte der deutschen chem. Gesellsch., 1869.

[3] Fr. Oltmanns, l. c., 1. Bd., p. 102. Ob man sich in Bezug auf das Verschwinden der Membranen gewisser Diatomeen nach Flußsäurebehandlung mit der Oltmanns'schen Erklärung: »Dabei bleibt theoretisch in beiden Fällen« (er spricht von Membran und Kieselsäurenachweis) »die gesamte Struktur der Zellmembran sichtbar, weil, wie bereits erwähnt, beide Komponenten sich durchdringen, in praxi wird sie an den Flußsäurepräparaten wegen der Weichheit der zelluloseähnlichen Masse undeutlich...« nach meinen Experimenten noch zufrieden geben kann, wage ich nicht zu entscheiden.

[4] F. Schütt, Ref. Zeitschr. für wiss. Mikrosk., 1901, XVIII., p. 100.

strahlen und als kieselsäurefreie Modifikation derselben erkannt wurden. Nicht minder interessant sind seine[1] Beobachtungen an *Antelminellia gigas*.

2. Für andere Pflanzen.

Ich erlaube mir im Anschlusse gleich mitzuteilen, daß ich mich im Laufe der nächsten Jahre auch mit der Frage der Notwendigkeit der SiO_2 für Equisetaceen, die sich unschwer in Nährlösungen kultivieren lassen, Gramineen und für *Lithospermum* beschäftigen möchte.

Unsere derzeitigen Kenntnisse über die Bedeutung der Kieselsäure für die genannten Pflanzen stützen sich ja, abgesehen von noch zu erwähnenden Arbeiten, im Grunde genommen auf die Erfahrungen von J. Sachs[2] an *Zea Mays*, von Fr. v. Höhnel[3] an *Lithospermum off.* und von C. A. Weber[4] an *Equisetum palustre*, Erfahrungen, von denen ich in Anbetracht der verfeinerten Methode, die uns heute zu Gebote steht, trotz der Zuverlässigkeit der Beobachtungen jener Forscher keine als völlig beweiskräftig ansehen kann. So ist es beispielsweise nicht unwichtig, zu betonen, daß die Pflanze v. Höhnel's, deren kieselfreie Kultur gelang, in einem Glasgefäße kultiviert wurde (nach v. Höhnel soll übrigens SiO_2 durch $CaCO_3$ ersetzt werden können), daß von Sachs die Maispflanze in einem Glase großgezogen wurde und daß C. A. Weber über seine Versuchsanstellung sich überhaupt nicht äußert, sondern der wichtigen Tatsache von der Si-freien Kultur von *Equisetum* bloß mit dem kurzen Satze gedenkt:

»Die Asche aller Equiseten ist sehr reich an Kieselsäure. Daß diese aber auch hier nicht als wesentlicher Nährstoff zu gelten hat, beweist der

---

[1] F. Schütt, zitiert nach Fr. Oltmanns, l. c., 2. Bd., p. 338, 339.

[2] J. Sachs, l. c., 1862, p. 52, 53.

[3] Fr. v. Höhnel, Beitrag zur Kenntnis der Bedeutung der Kieselsäure für die Pflanze. Wissenschaftlich-praktische Untersuchungen auf dem Gebiete des Pflanzenbaues. Mitt. von Fr. Haberlandt, 2. Bd., 1877, p. 160.

[4] C. A. Weber, Bremen. Der Duwock (*Equisetum palustre*). Berlin, Paul Parey; oder: Arbeiten der Deutschen landwirtschaftl. Gesellsch., Heft 72, 1902 (2. Ausgabe, 1903).

Umstand, daß es mir gelang, *Equisetum palustre* ebenso wie *E. arvense* in einer kieselsäurefreien Nährlösung zu guter Entwicklung zu bringen. Der starke Kieselsäuregehalt der Epidermis dieser Pflanzen darf nur als Schutzmittel gegen tierische Feinde und gegen das Eindringen von Schmarotzerpilzen aufgefaßt werden.« — Dabei ist von der Versuchsanstellung keine Rede, auch wird nicht weiter erörtert, worin die »gute Entwicklung« bestand.

Wären die Vorsichten der Paraffinauskleidung der Gefäße angewendet, so wären sie wohl auch erwähnt worden. Ebenso erscheint mir die Frage bei den anderen genannten Pflanzen so lange nicht abschließend beantwortet, so lange nicht unter Anwendung aller oben (p. 37) erwähnten Vorsichten deren Kultur wiederholt wurde.

Es ist auch hier von Interesse, auf die widersprechenden Anschauungen, die gerade in diesem Punkt in der Literatur zu finden sind, aufmerksam zu machen.

Die Entbehrlichkeit des SiO_2 als Nährstoff der höheren Pflanze scheinen anzunehmen:

Sachs:[1] »...und ich zweifle nicht« (er beurteilt seinen oft zitierten Versuch), »daß der Mais ebenso gewachsen wäre, wenn er die 30 *mg* Kieselsäure, die sich aus den Gefäßen auflösten, nicht aufgenommen hätte«.

Jodin,[2] der vier Generationen Mais hintereinander in »kieselsäurefreier« Nährlösung erzog.

Meyer:[3] »...und so scheint der Satz von der Entbehrlichkeit des in Rede stehenden Grundstoffes wenigstens für die höheren Pflanzen ein ziemlich allgemeiner.« — »...wenn wir auf Grund einer großen Reihe von vorliegenden Kulturversuchen zur Behauptung der Entbehrlichkeit des Siliciums für die höheren Pflanzen berechtigt sind«.

Pfeffer:[4] »Die Möglichkeit, Pflanzen in kieselsäurefreier Nährlösung zu ziehen, wurde zuerst von Sachs dargetan. — Die Versuche von Knop u. a. haben die Entbehrlichkeit für andere Getreidearten bestätigt«.

Czapek:[5] »Doch war es erst J. Sachs, welcher mit Hilfe der Wasserkulturmethode experimentell darzulegen vermochte, daß die Kieselsäure völlig entbehrt werden kann.«

---

[1] J. Sachs, l. c., p. 54.

[2] Jodin, 1883. Annales d. Chim. et d. Phys. V., 30, 485 zitiert nach Jost, l. c., p. 106.

[3] A. Meyer, l. c., p. 268 und 270.

[4] W. Pfeffer, l. c., p. 429.

[5] Fr. Czapek, Biochemie der Pflanzen. 2. Bd., 1905, p. 865.

Abgesehen von den von Sachs[1] bereits kritisierten Versuchen von Salm-Horstmar,[2] machen sich dagegen neuerlich Bestrebungen zu gunsten der Anschauung von der Wichtigkeit der Kieselsäure als Nährstoff geltend; vergl. Swiecicki (1900).[3]

Am besten, meine ich, drückt Jost den Stand der Kieselsäurefrage aus, wenn er über das Sachs'sche grundlegende Experiment meint:[4]

»Ganz streng ist der Beweis freilich noch nicht, denn die Asche der Si-frei gezogenen Maispflanze enthält noch immer 0·7% Kieselsäure (anstatt 18 bis 23%), die sie wohl aus dem Glas aufgenommen hat« —

und seine Ausführungen über das Si mit den Worten schließt:[5]

»So können wir zurzeit wohl sagen, daß die großen Massen von SiO_2 bei den Gramineen gewiß entbehrlich sind, wir wissen aber nicht, ob ein gänzliches Fehlen von ihnen ertragen wird.«

Die endgültige Lösung des Problems kann eben, wenn überhaupt, nur auf Grund von Experimenten mit innen paraffinierten Kulturgefäßen oder einer analogen Versuchsanstellung gegeben werden.

II. Die Notwendigkeit des Ca für die Diatomeen Nitzschia Palea und Navicula minuscula.

Seit den Untersuchungen Böhm's[6] über die Notwendigkeit des Ca für die höheren Pflanzen hatte man sich daran gewöhnt, die unbedingte Notwendigkeit des Stoffes für alle pflanzlichen Organismen anzunehmen, um so mehr, als alle Versuche[7] mit

[1] J. Sachs, l. c., p. 54 und 55.

[2] Salm-Horstmar, 1856. Versuche und Resultate über die Nahrung der Pflanzen. Braunschweig 1856, p. 15.

[3] Swiecicki, 1900. Ber. aus dem landw. Inst. Halle, 14; zitiert nach Jost, l. c., p. 107.

[4] L. Jost, l. c., p. 106.

[5] L. Jost, l. c., p. 107.

[6] J. Böhm, Über den vegetabilischen Nährwert der Kalksalze. Diese Sitzungsber., Bd. LXXI, I. Abt., April 1875.

[7] Vergl. die Literatur in Portheim's Arbeit.

höheren Pflanzen im Böhm'schen Sinne ausfielen. Daß die anscheinend widersprechenden Experimente von Dehérain,[1] nach dem höhere Temperatur das Ca-Bedürfnis aufheben soll, auf Beobachtungsfehlern beruhen, ist von Portheim[2] zweifellos erwiesen worden.

Erst Molisch hat bei der Kultur zunächst von Pilzen[3] und später von niederen Algen[3] verschiedener Familien den Beweis erbracht, daß es Pflanzen gibt, die des Ca für ihre Entwicklung entraten können. Kurze Zeit nach ihm fand Löw[4] dasselbe. Dabei ist zu beachten, daß gewöhnlich Algen, die im System relativ tief stehen, die erwähnte Fähigkeit besitzen und daß andere, wie *Spirogyra* und *Vaucheria*, die man ohne Ca ziehen will, an Ca-Hunger zu Grunde gehen. Ebenso fand Benecke[5] später Algen, die ohne Ca auskommen, während das *Hormidium nitens*, mit dem Klebs[6] gearbeitet hat, Ca braucht.

Es ist also offenbar schon zwischen den Grünalgen die Fähigkeit des Wachstums in anorganischer, Ca-freier Nährlösung sehr verschieden verteilt und der Rückschluß von der einen auf die andere Gruppe im System in dieser Beziehung durchaus unstatthaft. Um wie viel weniger wäre es berechtigt gewesen, auch bei den Diatomeen ein analoges Verhalten vorauszusetzen.

Es erschien somit in Anbetracht der genannten Arbeiten von Molisch[7] und Löw[8] als eine verlockende Aufgabe, die Diatomeen auch nach dieser Richtung hin etwas eingehender zu studieren.

---

[1] M. Dehérain, Nutrition de la plante. Fremy, Encyclopédie chimique, X., 1885, Chimie agricole.

[2] L. R. v. Portheim, Über die Notwendigkeit des Kalkes für Keimlinge, insbesondere bei höherer Temperatur. Diese Sitzungsber., Bd. CX, Abt. I, April 1901, p. [113].

[3] H. Molisch, III., l. c. — I., l. c.

[4] O. Löw, l. c.

[5] W. Benecke, l. c.

[6] G. Klebs. Die Bedingungen der Fortpflanzung bei einigen Algen und Pilzen. Jena 1896, p. 336. — Oltmanns, l. c., Bd. 2, p. 133, führt das *Hormidium* von Klebs an als Pflanze, die Ca nicht braucht.

[7] H. Molisch, l. c.

[8] O. Löw, l. c.

Die diesbezüglichen Ergebnisse an die über das SiO_2 unmittelbar anzuschließen, erscheint mir um so berechtigter, als sie sich auf jene Versuchsreihen stützen, die unter dem Namen »entscheidende Versuche« mitgeteilt sind.

Versuch I zeigt, daß sich in Kolonne 2 (0 Ca+0·01% $K_2Si_2O_5$) vom 25. Mai bis 13. Juni keine Diatomeen entwickelt haben;

Versuch III, daß trotz der langen Versuchsdauer vom 8. August bis 6. September in derselben Kolonne eine Entwicklung unterblieb.

Versuch IV. Dasselbe ist hier für die Kölbchen 2, 3 und 4 zu verzeichnen. Dagegen weist Kölbchen 1 der zweiten Kolonne, das von vorneherein einen Zusatz von 0·01% $CaCl_2$ erhalten hatte, eine herrliche Diatomeendecke auf.

Im Widerspruche mit diesen einheitlich ausgefallenen Experimenten, die auf eine Notwendigkeit des Ca für die Diatomee *Nitzschia Palea* hinweisen, steht nur die Beobachtung, daß nach Neuimpfung des Versuches I am 13. Juni auch in den Kölbchen *B* und *C*, wo ich $CaCO_3$ nicht eigens zugesetzt hatte, am 22. Juni bereits eine deutliche Entwicklung zu bemerken war. Zur Entkräftung dieses Befundes ist hier übrigens noch der Einwand gestattet, daß durch die Dauer des Versuches vom 25. Mai und das Herunternehmen desselben von den Drähten behufs Impfung die Paraffinauskleidung etwas geschädigt worden sein kann, so daß etwas Ca aus dem Glase hätte in Lösung gehen können.

Mit Bezug auf diese Versuchsergebnisse ist es höchstwahrscheinlich geworden, daß die Diatomee *Nitzschia Palea* Ca zu ihrem normalen Gedeihen braucht, wenigstens für den Fall, als $K_2Si_2O_5$ der Stoff ist, der ihr die notwendige Kieselsäuremenge vermittelt und die Stammlösung die gleiche bleibt wie in den behandelten Versuchen.

Wenn wir nämlich in Betracht ziehen, daß jeder Nährstoff nach Miquel[1] und in Anbetracht der Erfahrungen von Löw,[2] in zu großer Menge verwendet, giftig wirken kann, so ließe sich bei der benutzten Versuchsanstellung immer noch sagen, daß bei der Zusammensetzung der Kulturflüssigkeit

1000 *g* H_2O, 0·2 *g* KNO_3, 0·2 *g* PO_4K_2H, 0·01% $K_2Si_2O_5$ und 0·05 *g* $MgSO_4$ pr. M.

[1] P. Miquel, III., Recherches expérimentales sur la physiologie, la morphologie et la pathologie des diatomées. Paris, Annales de Micrographie, Juin-Juillet 1892, p. 2.

[2] O. Löw, Ein natürliches System der Giftwirkungen. München 1893.

eine solche Menge von K vorhanden gewesen sein mag, daß das K eben als Gift gewirkt hätte.

In diesem Fall ist der Experimentator in einer unangenehmen Lage, denn auch Versuche mit $Na_2Si_2O_5$ dürften wegen der großen Verwandtschaft beider Basen diese Schwierigkeit kaum beheben.

Das Erstrebenswerteste und Idealste wäre natürlich frisch gefälltes reines SiO_2 als Zusatz zur Nährlösung. Wenn man nun aber die einschlägige chemische Literatur über die Entwässerung der gallertigen Kieselsäure liest und die Dialysierung und Wässerung selbst einmal versucht hat und wenn man dabei bedenkt, daß für alle diese Experimente, so der Versuch exakt bleiben soll, Ca-freies, also dest. dest. Wasser in Ca-freien, also paraffinierten Gefäßen benutzt werden muß, daß das fließende Wasser dest. dest. Wasser sein soil und man zur Destillation so großer Quantitäten ganz unglaublich viel Zeit benötigen würde, wobei man nicht einmal voraussagen kann, daß die Wässerung zum ersehnten Resultate führt, so sinkt der Mut, sich dieser Aufgabe zu unterziehen. Jedenfalls verlangt sie, wenn sie durchgeführt wird, die volle Hingabe und neuerdings eine große Spanne Zeit.

Somit kann ich heute noch kein abschließendes Urteil über die Notwendigkeit des Ca für die *Nitzschia Palea* abgeben, aber das eine glaube ich mit Bestimmtheit wiederholen zu können, daß es höchstwahrscheinlich ist, daß sie eines Ca-Zusatzes zur Nährlösung bedarf.

Dieses Resultat wird auch durch gelegentliche Beobachtungen gestützt, die ich bei weniger exakter Versuchsanordnung erhielt. Stellt man sich z. B. Nährgelatine her, von der die eine ohne Ca-Zusatz belassen, die andere aber mit einem solchen versehen wird, so erscheinen die Kolonien und Kulturen in der Ca-Gelatine viel satter gefärbt und besser entwickelt. Ebenso gelingt es, mit $CaCO_3$-Körnchen auf gewässertem, »anorganischem« Agar positive Auxanogramme hervorzurufen[1] (vergl. diese).

---

[1] Auch einige Bemerkungen Miquel's mögen als Stütze dieser Ergebnisse mit angeführt sein: Nach ihm hätten die Diatomeen gerade für die

Ich bin mir in diesem Momente wohl bewußt, daß ich mit dem obigen Ausspruche gerade das Gegenteil sage von dem, was ich in Punkt 5 der Zusammenfassung meiner ersten Arbeit[1] und in der Zusammenfassung der Vorversuchsergebnisse ausgesprochen habe.

Doch ein solcher Meinungswechsel dürfte sehr wohl entschuldbar sein, wenn man bedenkt, daß ich damals bloß mit Agar und Gelatine arbeitete, die einen Zusatz eines Ca-Salzes ganz unnötig erscheinen ließen. Auch die ersten Nährlösungen, die ich benutzte und die ich, noch nicht vertraut mit der großen Genügsamkeit der Diatomeen, im Glaskölbchen stehen ließ, enthalten, wie die betreffenden Tabellen zeigen, noch keinen Ca-Zusatz.

Es reichen eben jene Ca-Mengen, die sich die Nitzschien aus den Glasgefäßwänden lösen, die in gewässertem Agar und in Gelatine, ja jene Spuren, wie sie im gewöhnlichen destillierten Wasser, das normalerweise zur Darstellung der Nährlösung benutzt wird, unvermeidlich sind, aus, um eine Entwicklung zu gestatten.

Salze des Ca und des Na, dann erst des K, eine besondere Vorliebe; die betreffende Stelle lautet:

I., p. 94: »Les sels de soude et de chaux sont ceux pour lesquels les diatomées ont une prédilection speciale; il en est de même, mais à un degré moidre, des sels, de potasse«;

I., p. 127: Wird $CaCl_2$-Zusatz zur Nährlösung angeraten, um den Nitzschien das Übergewicht zu verschaffen.

I., p. 154: Ebenso $CaSi_2O_5$ 0·1 bis 0·2 *g* p. M.

Auch in seiner Mitteilung an die Akademie (Comptes rendus de l'Academie des sciences, t. CXIV, 28 mars 1892, p. 780) bezeichnet er Ca-Salze als sehr fördernd für die Diatomeenentwicklung. — Nach meinen Erfahrungen an Rohkulturen ist der Effekt, den $CaCl_2$ und $K_2Si_2O_5$ im Lichte hervorrufen, ganz überraschend. Während Kontrollkulturen ohne diese Zusätze von Grünalgen intensiv grün gefärbt sind, erscheint bei den genannten Zusätzen der Boden der Kulturgefäße braun von Diatomeen. Auf Karsten's Befund von der Schädlichkeit der Ca-Salze (G. Karsten, Über farblose Diatomeen. Flora, 1901, Ergänzungsbd., p. 412) für Diatomeen wird bei der Reaktion der Nährlösung noch eingegangen werden.

[1] Oswald Richter, l. c., p. 504.

Nachdem ich nun durch die neu verwendete Methode, wie sie Molisch bei seinen Algenversuchen benutzte — Auskleidung mit Paraffin, Destillation des destillierten Wassers u.s.f. — eines anderen belehrt wurde, stehe ich nicht an, den damals geäußerten Satz vorläufig zurückzunehmen und den Stand, in dem sich die Frage nach dem Ca-Bedürfnis der Diatomee *Nitzschia Palea* zurzeit befindet, nochmals dahin zu präzisieren:

Es ist höchstwahrscheinlich gemacht worden, daß die *Nitzschia Palea* des Ca für ihre normale Entwicklung nicht entraten kann.

Die Diatomee *Navicula minuscula* scheint ein größeres Ca-Bedürfnis zu haben als die *Nitzschia Palea*, weil man hier schon bei ganz roher Versuchsanstellung klare Resultate erhält.

Am 2. März 1904 wurde ein Versuch mit *Navicula minuscula* in Glaskölbchen ohne Paraffinauskleidung hergestellt.

Stammlösung 1000 T. H_2O, 0·2 *g* KNO_3, 0·2 *g* K_2HPO_4, 0·2 *g* $MgSO_4$, Spur $FeSO_2$, also Ca-frei (I); zur Versuchskolonne (II) wurden dann noch 0·2 *g* $CaSO_4$ p. M. zugesetzt.

Beobachtung am 11. März 1904:

I. *A* bis *C*......	0 Entwicklung.
II. *A*...........	Deutliche Kolonien.
B...........	Zahlreiche deutliche Kolonien.
C...........	Spärliche Kolonien.

Beobachtung am 17. März 1904:

I. *A* bis *C*......	0 Entwicklung.
II. *A* bis *C*......	Boden erscheint braun vom dicken Diatomeenbelag.

Dieses Bild bleibt bis fast zum Versuchsschluß am 19. Mai 1904 erhalten. Am 19. Mai waren im Kölbchen II *B* die Diatomeen bereits im Absterben begriffen.

Ein Eprouvettenversuch gleichen Datums und analoger Versuchsanstellung fiel vollkommen gleich aus.

Darnach kann der Satz, den wir eben für die *Nitzschia Palea* abgeleitet haben, erweitert werden und die Antwort auf die Frage nach dem Ca-Bedürfnis beider Diatomeen lautet also:

Es ist sehr wahrscheinlich geworden, daß beide Diatomeen Ca zu ihrer Entwicklung brauchen.

III. Die Notwendigkeit des Mg für die Diatomeen Nitzschia Palea und Navicula minuscula.

Schon die Untersuchungen von Molisch über Pilze[1] und Algen[2] haben ergeben, daß das Mg für die Thallophyten ebenso notwendig ist wie für die höhere Pflanze. Ich habe daher mit der sicheren Erwartung, in Mg-freier Nährlösung keine Diatomeenentwicklung zu erhalten, eine Reihe von Versuchen durchgeführt, die alle erwartungsgemäß ausfielen und von denen zwei Versuche mitgeteilt sein mögen.

Am 15. Mai 1903 wurde eine paraffinfreie Kölbchenkolonne, die aus Kölbchen mit »Ca- und Mg-freier« Nährlösung und Stammlösung $+ ^1/_{16}$, $^1/_4 . ^1/_2 g$ $MgSO_4$ bestand, mit *Nitzschia Palea* geimpft. Am 27. Mai war in der Stammlösung 0, in $^1/_{16}$ schwache, in $^1/_4$ gute und in $^1/_2 g$ $MgSO_4$ starke Entwicklung zu bemerken. Am 17. Juni bot sich beziehungsweise verstärkt dem Beschauer das gleiche Bild. In der Mg-freien Nährlösung konnte also keine Entwicklung beobachtet werden.

Am 19. September 1903 wurde ein analoger Versuch mit *Nitzschia Palea* geimpft, am 9. Oktober bemerkte man in der Stammlösung keine, in $^1/_{16}$ und $^1/_4 g$ $MgSO_4$ sehr starke, in $^1/_2 g$ $MgSO_4$ spärliche Entwicklung; in der Folge verstärkte sich dieses Bild.

Die meisten meiner einschlägigen Experimente fallen schon vor meine erste Veröffentlichung,[3] weshalb auch das Resultat schon in diese Publikation mit aufgenommen wurde, dahin lautend, »daß das Mg auch für die Diatomeen absolut notwendig ist«. Dieses Ergebnis finde ich auch in die Referate meiner Arbeit in der »Botanischen Zeitung«, 1904, p. 44, »Bot. Zentr.«, 1904, XCVI., p. 509; »Österr. bot. Zeitschrift«, 1904, LIV., p. 74, und »Naturw. Rundschau«, 1904, p. 152, aufgenommen, leider im »Bot. Zentr.« mit einem »nicht«[4] zu viel, denn dort heißt es p. 510: »Mg ist nicht notwendig«. Mit dieser Bemerkung mag der unangenehme Druckfehler in Heering's Referat berichtigt und die Ergebnisse meiner Untersuchungen

---

[1] H. Molisch, III., l. c.

[2] H. Molisch, I., l. c.

[3] Oswald Richter, l. c. p. 504.

[4] Im Referate nicht gesperrt gedruckt.

über die Bedeutung des Mg für die Diatomeen *Nitzschia Palea* und *Navicula minuscula* in dem Satze zusammengefaßt sein:

Das Mg ist zur Entwicklung der genannten Diatomeen absolut notwendig.

IV. Über die Notwendigkeit gebundenen N für die Diatomeen Nitzschia Palea und Navicula minuscula sowie deren Fähigkeit, organisch gebundenen Stickstoff im Lichte zu assimilieren.

Beijerinck's[1] und Artari's[2] interessante Versuche, besonders des letzteren Resultate an Stichococcuskulturen bei hohem Leucin- oder Kalisalpeterzusatze ließen es wünschenswert erscheinen, ähnliche Experimente auch mit anderen Algen auszuführen, um diesen Ergebnissen eine möglichst allgemeine Gültigkeit zu verschaffen.

Da nun mit Diatomeen-Reinkulturen bislang in dieser Richtung nicht gearbeitet worden war, erschien es doch der Mühe wert, hier mit eingehenden Untersuchungen einzusetzen, die zunächst die Antwort geben sollten auf die Frage, ob die Diatomeen im stande wären, organisch gebundenen Stickstoff zu assimilieren. Wie wichtig dabei die Verwendung von absoluten Reinkulturen war, leuchtet ein. Ebenso begreiflich erscheint es aber auch, daß sich unwillkürlich mit der einen auch noch eine zweite Frage verquickte, die nämlich, ob die Diatomeen im stande wären, den freien oder atmosphärischen Stickstoff direkt zu verwerten.

Wie bekannt, hat Frank[3] behauptet, daß nicht nur die Leguminosen, sondern alle grünen Pflanzen, also auch die Algen, die Fähigkeit besäßen, elementaren Stickstoff zu assimilieren, und Th. Schloesing d. J. und Em. Laurent[4] schrieben

---

[1] M. W. Beijerinck I., l. c.

[2] Alexander Artari, Über die Bildung des Chlorophylls durch grüne Algen. Ber. der deutsch. bot. Gesellsch., 1902, XX., p. 201.

[3] A. B. Frank, Landwirtschaftl. Jahrbücher, 1888, p. 421 und Ber. d. d. b. G., 1889, p. 34.

[4] Th. Schloesing fils et E. Laurent, Sur la fixation de l'azote libre par les plantes. C. R., 1891, CXIII, 776 et 1059, 1892, CXV, 659 et 732.

unter anderen Algen auch der *Nitzschia* diese Fähigkeit zu. Für gewisse Grünalgen haben Kassowitsch[1] und Molisch[2] die Unrichtigkeit dieser Anschauung erwiesen.[3]

Für die Kieselalgen ist meines Wissens die Frage nicht mehr aufgenommen worden, wobei wohl als Hauptgrund der Mangel bakterienfreier Reinkulturen anzusehen ist. Erst in jüngster Zeit, also zwei Jahre nachdem es mir gelungen war, derartige Reinkulturen zu erzielen, bei welcher Gelegenheit ich sofort auf die nun gegebene Möglichkeit, der Stickstofffrage meine Aufmerksamkeit widmen zu können,[4] hingewiesen habe, kündigte sich Treboux[5] mit ähnlichen Experimenten an, weil er sich auch im Besitz absoluter Reinkulturen von Diatomeen befinde. Tatsächlich habe ich auch bei der internationalen botanischen Ausstellung in Wien Reinkulturen aus Treboux's Stammmaterial gesehen. Indem ich nun noch der Hoffnung Ausdruck gebe, daß seine Experimente eine volle Bestätigung meiner Befunde liefern mögen, teile ich wieder wie früher die Ergebnisse tabellarisch mit, um an der Hand der Tabellen die allgemeinen Folgerungen abzuleiten.

Da, wie aus meinen späteren Ausführungen hervorgeht,[6] von einer nennenswerten Vermehrung der Diatomeen im Dunkeln nicht die Rede sein kann, darf es nicht wundernehmen, daß Treboux[7] vorläufig bei seinen Kulturen mit *Navicula exilissima* Grun., *Nitzschia Palea* (Kütz.) W. Sm., *Diatomee* sp. bei gänzlichem Lichtabschlusse keine Resultate hatte. Wenigstens finde ich die Diatomeen, ausgenommen bei der Aufzählung p. 434, in der Arbeit nicht mehr erwähnt.

---

[1] P. Kassowitsch, Untersuchungen über die Frage, ob die Algen freien Stickstoff fixieren. Bot. Zeitg., 1894, p. 97.

[2] H. Molisch, Die Ernährung der Algen I., l. c., p. 11.

[3] Im übrigen vergl. die einschlägige Literatur in Fr. Lafar, Technische Mykologie, Jena 1897, p. 316, und Handbuch der technischen Mykologie, Jena 1904, III. Bd., p. 12.

[4] Oswald Richter, l. c., p. 504.

[5] Treboux O., l. c. p. 571.

[6] p. 94 bis 100.

[7] Treboux O., Organische Säuren als Kohlenstoffquelle bei Algen. B. d. d. b. G. XXIII, 1905, H. 9, p. 432.

1. Versuchsanstellung.

Da die Versuchsbefestigung im wesentlichen mit der bekannten übereinstimmt und aus den Tabellen das Notwendige hervorgeht, betone ich nur noch, daß eine Paraffinauskleidung, weil unnötig, in diesen Experimenten wegblieb. Das starke diffuse Licht des verwendeten Nordfensters wurde mit durchscheinendem Papier abgeblendet.

2. Die tabellarische Zusammenstellung der Versuchsergebnisse

findet sich auf Tafel III.

3. Zusammenfassung der Ergebnisse aus den mitgeteilten Versuchen über die Stickstoffernährung der beiden reinkultivierten Diatomeenspezies.

1. Beide Diatomeen sind im stande, organisch gebundenen Stickstoff zu assimilieren. Am geeignetsten sind Asparagin und Leucin, dann Albumin und Pepton. Mitunter lange bevor in den Kölbchen mit anorganisch gebundenem N irgend eine Spur von Entwicklung zu sehen ist, bemerkt man bereits eine dichte Diatomeendecke bei Asparagin- oder Leucinernährung. Bezüglich des »Glutins für die Technik« scheint einige Vorsicht am Platze, da das chemische Produkt eben nur für die Technik rein und somit nicht vollkommen einwandfrei ist.

2. Der Stickstoff wird von der *Nitzschia Palea* auch ohne Schwierigkeit den Ammonium- und Salpetersäureverbindungen entnommen. Dabei erscheint es nicht von Belang, ob das Ammonium als Chlorid, Sulfat oder Nitrat in Verwendung kommt, dagegen ist das Tartrat, auch das neutrale, unvorteilhaft und Ammoniumcarbonat gestattet überhaupt keine Entwicklung. Der Grund dafür dürfte in dem bei der Sterilisation frei gewordenen NH_3 liegen.

3. Auffallend ist das vollkommene Unterbleiben jedweder Entwicklung der *Navicula minuscula* in Nährlösungen mit den

genannten Zusätzen. Daraus wäre der Schluß berechtigt, daß diese Diatomee unter meinen Versuchsbedingungen die Ammoniumsalze nicht verwerten kann.

4. Kalisalpeter hat sich schon früher für die *Nitzschia* als gute Stickstoffquelle erwiesen. Die *Navicula* gedieh auch in den »Salpeterkölbchen« nicht. Es erscheint dies um so auffälliger, als sie auf dem »anorganischen Agar«, das Kaliumnitrat enthält, gut fortkommt. Ob dabei die im Agar trotz der Wässerung gewiß noch vorhandenen Spuren von organischen Stickstoffverbindungen oder das festweiche Substrat das Ausschlaggebende sind, wage ich nicht zu entscheiden (vgl. auch p. 54).

5. Von den Kölbchen ohne N-Zusatz zeigt im *Navicula*-Versuche keines eine Entwicklung, dagegen war in einigen bei den Versuchen mit Nitzschien eine dünne Haut von Diatomeen zu sehen. Den Schluß daraus ziehen zu wollen, daß die *Nitzschia* demnach im stande wäre, den elementaren Stickstoff zu assimilieren, halte ich aber für unberechtigt, da eben gezeigt wurde, daß der Stickstoff auch der Ammoniumsalze verwertet werden kann und die »N-freie« Nährlösung während der langen Versuchszeit, während welcher sie an den Fenstern des Laboratoriums hing, sattsam Gelegenheit hatte, NH_3-Dämpfe u. s. f. zu absorbieren.

Diese geringe Entwicklung der Diatomee auf die gasförmigen Verunreinigungen der Luft zurückzuführen, erscheint umso gerechtfertigter, als aus den Versuchen von Rullmann[1] mit Nitrobakterien bereits hervorgeht, wie vorsichtig man bei der Beurteilung von im Laboratorium angestellten Experimenten über *N*-Ernährung sein muß.

6. Von ausschlaggebender Bedeutung ist die Konzentration der verwendeten N-Verbindung. Während beispielsweise im ersten Versuche bei Pepton als N-Quelle bei den verwendeten Konzentrationen von 1, 5 und 10 p. M. gar keine Entwicklung zu konstatieren war, kann man im zweiten mitgeteilten Versuche bei 0·1% doch ein recht gutes Gedeihen bemerken und es ist sehr wahrscheinlich, daß bei weiterer

---

[1] Rullmann W., Der Einfluß der Laboratoriumsluft bei der Züchtung von Nitrobakterien. Z. f. B. u. P. 1899, 2. Abt., V, p. 212 und 713.

Verdünnung ein noch besseres Wachstum hätte beobachtet werden können. Eiweiß wird bis 0·1% vertragen und erlaubt ein ganz prachtvolles Gedeihen bei dieser Konzentration. Bei Asparagin und Leucin ist der Spielraum bedeutend größer, vorläufig ist er mit 0·1% als untere und 1% als obere Grenze noch nicht abgesteckt. Die anorganischen Stickstoffquellen müssen alle sehr verdünnt geboten werden. 0·5 und 1% sind entschieden zu konzentriert, 0·1% gestattet eine prachtvolle Entwicklung und $^n/_{100}$ scheint zum mindesten gleich gut geeignet.

4. Frühere Erfahrungen über Stickstoffernährung.

Mit diesen Ergebnissen stehen auch noch eine Reihe weiterer Erfahrungen, wie sie bei derartigen Untersuchungen gelegentlich gemacht werden, und andere nicht mitgeteilte, ich möchte sagen: Vorversuche, endlich die Ergebnisse meiner ersten Diatomeenarbeit in gutem Einklang.

Schon damals konnte ich hervorheben, daß es nicht notwendig ist, zur Darstellung der »Diatomeengelatine« einen eigenen Nitratzusatz[1] zu verwenden, was ich heute dahin ergänzen möchte, daß man zur käuflichen feinsten weißen Gelatine überhaupt nichts zuzusetzen braucht und daß sie so, wie sie ist, nach Neutralisation und Klärung zur Diatomeenkultur verwendet werden kann.

Wenn dies nun freilich vorläufig nur beweist, daß alle notwendigen Nährsalze schon in der Gelatine vorhanden sind, so scheint mir doch der Umstand, daß die nämliche Gelatine von den Diatomeen gelöst wird, sehr dafür zu sprechen, daß die Diatomeen sich nicht bloß auf jene Spuren anorganisch gebundenen Stickstoffes beschränken, sondern auch, weil er ihnen zur Verfügung steht, wie in den mitgeteilten Versuchen den organisch gebundenen Stickstoff des Kulturmediums verwerten.

Bereits bei Behandlung des SiO_2 und Ca wurde der großen Bedeutung des $CaSiO_3$ sowie der Vereinigung von $CaCl_2$ und $K_2Si_2O_5$ in Nährlösungen für die Kieselalgen ge-

[1] Oswald Richter, l. c., p. 497.

dacht. Bei meinen ersten Stickstoffversuchen, die im September 1903 und im Februar 1904 durchgeführt wurden, kannte ich diese fördernde Wirkung noch zu wenig und wußte nur, daß die Diatomeen in Glaskölbchen einen derartigen Zusatz nicht brauchen. Erst bei den mitgeteilten Experimenten wurde durch $CaSi_2O_5$-Zusatz im ersten und durch $CaCl_2$ und $K_2Si_2O_5$-Zusatz im zweiten diesen Erfahrungen Rechnung getragen.

Wenn ich mir nun zwar bei meinen Vorversuchen in der Stickstofffrage den Einwand machen kann, daß nie die Kölbchen eines Versuches so einheitlich aus demselben Glase gleicher Zusammensetzung und Lösbarkeit gemacht sein können und so durch die verschiedenen Lösungsbedingungen und den damit gegebenen Schwierigkeiten der Beschaffbarkeit von Ca und SiO_2 erhebliche Versuchsfehler möglich sind, so scheint es mir doch auffällig, daß in beiden Vorversuchen gerade im Leucin, und zwar keine schwache Entwicklung stattfand, während in den andern Kolonnen Stammlösung, Asparagin, Ammoniumtartrat, Ammoniumsulfat, Ammoniumnitrat, Kalisalpeter und Pepton keine zu beobachten war. Da sich Leucin auch später so ungemein wachstumsfördernd gezeigt hat, stehe ich nicht an, auch diese Beobachtungen trotz ihrer oben angedeuteten Mängel als Stütze für die Assimilierbarkeit organisch gebundenen Stickstoffes durch Diatomeen anzusehen.

Wie aus der Zusammenfassung der Ergebnisse der Stickstoffversuche hervorgeht, ist es unwahrscheinlich, daß die Diatomeen den freien Stickstoff zu verwenden vermögen. Jene Spuren von Ammoniak, Salpetersäure u. s. f., die in der Laboratoriumsluft unvermeidlich sind, mögen jenen kümmerlichen Ansatz dazu erklären, den man in den Stammlösungen mitunter wahrnimmt. Das setzt nun eine sehr große Genügsamkeit der Kieselalgen in dieser Beziehung voraus und dafür noch eine Illustration.

Auf ein Agar von folgender Zusammensetzung:

1000 Teile destilliertes Wasser
0·05 *g* $MgSO_4$
0·01 *g* $K_2Si_2O_5$
0·2 *g* K_2HPO_4
Spur $FeSO_4$

wurde am 1. März 1905 in vier Eprouvetten für Strichkulturen *Nitzschia Palea* geimpft und die geimpften Kulturen ans Fenster ins gute diffuse Licht gehängt. Der Kontrollversuch enthielt noch 0·2 *g* KNO_3.

Versuch.

Am 7. März: Eprouvette 1 zeigt die erste deutliche Entwicklung.
» 11. » » 4 » » » » »
» 14. » » 2 und 3 zeigen die erste deutliche Entwicklung.

In der Folge kann man in den Eprouvetten ganz allgemein eine hellbraune, aber dichte Diatomeendecke wahrnehmen.

Kontrollversuch. Auch bei ihm begann die Entwicklung am 7. März. Doch erscheinen die Kulturen tiefbraun und kräftig.

Dieses Experiment lehrt also in Übereinstimmung mit den andern, daß die *Nitzschia Palea* mit jenen Spuren von N, die noch im gewässerten »anorganischen« Agar vorkommen, beziehungsweise die ihr durch die Verunreinigungen der Luft zugeführt werden, ihr Auslangen findet; zeigt sie, so gezogen, zwar nicht entfernt ihre gewohnte Üppigkeit, so ist ihr Fortkommen doch zweifellos.

Es lassen sich somit die Resultate der Untersuchungen über das Verhalten der Diatomeen *Nitzschia Palea* und *Navicula minuscula* zum gebotenen Stickstoff in folgendem Satze zusammenfassen:

Die beiden Diatomeen vermögen organisch und anorganisch gebundenen Stickstoff zu assimilieren, den freien, nicht gebundenen wahrscheinlich nicht.

Dieses mit bakterienfreien Reinkulturen von Diatomeen erhaltene Resultat wird gewiß bedeutend gestützt werden und die Folgerungen an Berechtigung gewinnen, wenn es gelänge, Versuche anderer mit Diatomeen und andern Algen namhaft zu machen, die zu ganz ähnlichen Ergebnissen geführt haben ohne Rücksicht darauf, ob Reinkulturen vorlagen oder nicht; dabei bin ich mir, soweit auf Rohkulturen Bezug genommen wird, selbstverständlich des bloß bedingten Wertes einer solchen Beweisführung bewußt.[1] So stellte sich bei den Untersuchungen

---

[1] Man vergl. dazu die Bemerkung Fr. Oltmanns', l. c., II. Bd., p. 155: »Immerhin absolut sichere Resultate geben nur Kulturen, welche nicht bloß

Karsten's[1] in Übereinstimmung mit meinen Versuchen unter andern Nährlösungen die Verbindung von Asparagin und Traubenzucker als sehr günstig für die Diatomeenentwicklung auch für die im Dunklen heraus. Asparagin wird nach Zumstein[2] auch von Euglenen, nach Pampaloni[2] von *Protococcus caldariorum*, nach Beijerinck[3] von *Chlorella* und nach Artari[4] von *Parmelia parietina* assimiliert. Auch Beijerinck's[3] Peptonalgen können hier zum Vergleiche herangezogen werden. Stickstoffhaltige organische Verbindungen förderten Miquel's[5] Diatomeenkulturen und, wenn wir uns auch nicht mit seiner Folgerung, die Substanzen, die man diesen Algen gibt, müssen stickstoffreich sein, wie sie in der Klasse der Albumoide zusammengefaßt sind,

»Les substances à donner à ces algues doivent donc être surtout azotées, et faire partie de la classe des corps quaternaires appelés albuminoides«[5]

einverstanden erklären werden, so ist doch die Übereinstimmung seiner Ergebnisse mit meinen Versuchskolonnen über Eiweißernährung beachtenswert.

Dagegen erweist sich die Ernährung mit Pepton in meinen Versuchen nicht so fördernd, daß ich meine Diatomeen auch Peptonalgen nennen könnte, wie er es tut.

Auf der andern Seite scheint er mit Ammoniumsalzen keine befriedigenden Resultate erzielt zu haben, was anscheinend daraus hervorgeht, daß er in seinen Rezepten den Zusatz von NH_4-Verbindungen für Diatomeenrohkulturen geradezu abrät.[6] p. 94 erklärt er sie direkt für schädlich:

»...quand aux sels ammoniacaux très souvent ils leur sont nuisibles«.

---

eine Algenspezies enthalten, sondern auch völlig frei von Bakterien sind; sie sind besonders unentbehrlich, wenn es sich um die Wirkungen organischer N-Verbindungen handelt.«

[1] G. Karsten, l. c., p. 412.

[2] Die einschlägige Literatur vergl. in Fr. Oltmanns, l. c., II. Bd., p. 157 bis 159.

[3] M. W. Beijerinck, I., l. c.

[4] A. Artari, l. c.

[5] P. Miquel, III, l. c., Juin-Juillet, 1892, p. 1, und Mars 1892, p. 1. Vergl. auch W. Benecke, l. c., p. 567.

[6] P. Miquel I, p. 153; II, p. 780. Enfin les sels amoniacaux, notamment l'azotate d'ammoniaque — entravent la végétation —.

Um so auffallender ist die Empfehlung von NH_4Cl durch Beijerinck[1] als Zutat zur Nährflüssigkeit, ein Ratschlag, mit dem meine Ergebnisse harmonieren.

Bezüglich der übrigen Literatur über die Assimilierbarkeit von NH_4-Verbindungen und Nitraten durch Grünalgen vergl. Fr. Oltmanns, II. Bd., l. c., p. 135 u. f.

Daß natürlich die farblosen Diatomeen, wie sie Cohn[2] und Provazek[3] beobachteten und Benecke[4] und Karsten[5] in Kultur hatten, auf organische Ernährung auch mit organischen Stickstoffverbindungen angewiesen sind, dürfte nicht wundernehmen. Bezeichnend aber scheint, daß das Bedürfnis nach organischer Substanz so ausgeprägt ist, daß es sich bei geeigneter Versuchsanstellung in Chemotaxis[2] verrät.

Eine besondere Erwähnung verdient außerdem die bei organischer Ernährung auftretende,[6] von Miquel, Benecke und Karsten festgestellte Reduktion der Chromatophoren bei saprophytischer Lebensweise.

Ich kann mich nicht des Gedankens erwehren, daß diese Chromatophorenreduktion eine pathogene, durch die Bakterientätigkeit bedingte Erscheinung ist. Damit ließe sich die von Karsten beobachtete Vergrößerung der Chromatophoren beim Übertragen von Diatomeen aus der organischen in eine anorganische Nährlösung ganz gut in Einklang bringen. Denn mit dem Momente des Übertragens[7] wird in der anorganischen Lösung die Entwicklung der Bakterien ungemein gehemmt und die Vergrößerung des Chromatophors bis zur normalen Gestalt würde verständlich. Wie man sich nun diese Bakterienwirkung zu denken hätte, entzieht sich vorläufig unserer Beurteilung, es könnte ebenso an eine zerstörende wie eine

---

[1] M. W. Beijerinck, II, l. c., p. 29.

[2] F. Cohn, Untersuchungen über die Entwicklungsgeschichte der mikroskopischen Algen und Pilze. Verh. d. k. Leopold-Carol. Akad., 1854.

[3] S. Provazek, *Synedra hyalina*, eine apochlorotische Bacillarie. Österr. bot. Zeitschr., L. Jg., März 1900, p. 69. Die übrige Literatur vergl. bei [4] und [5].

[4] W. Benecke, l. c., p. 536/537, 561, 565.

[5] G. Karsten, l. c., p. 425.

[6] G. Karsten, l. c., p. 424.

[7] G. Karsten, l. c., p. 424.

die saprophytische Lebensweise der Diatomeen fördernde gedacht werden. Es wäre ja nicht unmöglich, daß die Bakterien Spaltungsprodukte der organischen Substanzen liefern, die für die Diatomeen besonders mundgerecht sind und sie erst zur vollkommen saprophytischen Lebensweise, mit der Entfärbung Hand in Hand gehen könnte, befähigen. Für die Glyzerinernährung[1] nimmt Karsten sogar selbst Ähnliches an.

Tatsache ist, daß ich bisher bloß in einer »Rohkultur« auf mit anorganischer Nährlösung getränktem Filtrierpapiere Karsten's farblos gewordene Nitzschien gesehen habe, nie in einer meiner absoluten Reinkulturen. Ich komme noch später darauf zurück, daß mir in Übereinstimmung hiemit die Erzielung von üppigen Dunkelkulturen von Kieselalgen völlig mißlang, womit natürlich nicht gesagt sein soll, daß es bei glücklicher Wahl und Kombination verschiedener organischer N- und C-Quellen schließlich doch einmal gelingen sollte, braune Kieselalgen zur saprophytischen Ernährungsweise auch in Reinkulturen zu bringen. Meiner Erklärung widerspricht auch nicht die Angabe[2] Karsten's von der rascheren Reduktion der Chromatophoren im Licht als im Dunklen. Man braucht nur seine Erklärung von der sich rasch vergrößernden Individuenzahl mit meiner zu verquicken. Die Diatomeen haben danach sozusagen keine Zeit, sich unter Hemmung durch die Bakterien der Chromatophorbildung rasch genug zu widmen.

Wie weit die auch von Karsten[3] zitierte Stelle aus Miquel's[4] Arbeit damit in Einklang zu bringen sein wird, müssen erst neue Versuche lehren; in allen Fällen aber, wo er bei der Wärme-,[5] Sublimat-[6] und Karbolsäurewirkung[6] auf »farblos gewordene« bewegliche Diatomeen zu sprechen kommt, scheint er mit Rohkulturen gearbeitet zu haben. Ebenso arbeitete Benecke[7] bloß mit Rohkulturen.

---

1 G. Karsten, l. c., p. 420.
2 G. Karsten, l. c., p. 414.
3 G. Karsten, l. c., p. 409.
4 P. Miquel, II., l. c., p. 170.
5 P. Miquel, III., l. c., Mars 1892, p. 15.
6 Derselbe, III., l. c., Juin-Juillet, 1892, p. 5 und p. 13.
7 W. Benecke, l. c., p. 562.

Meine Untersuchungen haben also in Übereinstimmung mit früheren Beobachtungen an Grünalgen und Diatomeen, abgesehen von einigen Differenzen in damit zusammenhängenden Fragen, gezeigt, daß die Kieselalgen organisch gebundenen Stickstoff direkt zu assimilieren im stande sind.

Dieses Ergebnis läßt es nicht unpassend erscheinen, an dieser Stelle die Flußreinigungsfrage zu berühren.

5. Ausblick auf die Bedeutung der Diatomeen für die Flußreinigung.

Seit den Untersuchungen von Mez,[1] Kolkwitz und Marsson,[2] Strohmayer[3] und Schorler[4] hat man den Grünalgen eine große Bedeutung bei der Flußreinigung zuerkannt, indem man sich vorstellte, daß einerseits durch ihre O-Entbindung beim Assimilationsgeschäfte die organischen Substanzen oxydiert und andrerseits auch von ihnen direkt aufgenommen würden.

Durch die Untersuchungen von Beijerinck, Artari und vielen anderen[5] ist die Aufnahme organischer Sticktoffsubstanzen seitens der Grünalgen zweifellos festgestellt und es so wahrscheinlich gemacht worden, daß diese auch durch direkte Verwertung der stickstoffhaltigen Verunreinigungen des Wassers zur Flußreinigung beitragen mögen. Nun erscheinen aber die Grünalgen erst im Juni und Juli in ihrem Optimum der Entwicklung, wo schon die Lichtstrahlen allein wegen der erlangten Intensität ihre bakterientötende und somit säubernde Wirkung im Flußwasser geltend machen können,[6] im Februar und März aber,

---

[1] C. Mez, Mikroskopische Wasseranalyse. Berlin 1898.

[2] R. Kolkwitz und M. Marsson, Grundsätze für die biologische Beurteilung des Wassers nach seiner Flora und Fauna. Sonderabd. »Mitt. d. kgl. Prüfungsanstalt f. Wasservers. u. Abwässerbeseitigung«, Heft 1. Berlin 1902.

[3] O. Strohmayer, Die Algenflora des Hamburger Wasserwerkes. Leipzig 1897.

[4] B. Schorler, Die Vegetation der Elbe bei Dresden und ihre Bedeutung für die Selbstreinigung des Stromes. Zeitschrift für Gewässerkunde 1898, H. 2, p. 100 und 108.

[5] Vergl. die frühere Literaturzusammenstellung.

[6] Fr. Lafar, Technische Mykologie. Jena 1897, 1. Bd., p. 74.

wo die Lichtstrahlen noch ungemein schräg die Wasserläufe treffen und ihre Intensität noch eine sehr geringe ist, zeigen sich die Grünalgen gewöhnlich nicht oder bloß spärlich, so daß ihre reinigende Wirkung in diesen Monaten weder als kohlensäure-assimilierende noch als organisch gebundenen Stickstoff verdauende Lebewesen in Betracht kommt. In dieser Zeit sind es, wie Ruttner[1] jüngst wieder gezeigt hat, gerade die Diatomeen und unter diesen die *Synedra ulna*, die in so ungeheuren Mengen im Flußwasser auftritt, daß man in 50 *l* Wasser der Wasserleitung rund 2,000.000 Diatomeen zählt. Gewiß werden diese Algen durch die Entbindung von O zur Reinigung des Wassers mitbeitragen. Wenn wir aber bedenken, daß es für zwei Diatomeen, die *Nitzschia Palea* und die *Navicula minuscula*, gelungen ist, nachzuweisen, daß sie organisch gebundenen Stickstoff zu assimilieren vermögen, so dürfte die Behauptung nicht ungerechtfertigt sein, daß wir in den Diatomeen bisher noch nicht hinreichend gewürdigte Förderer der Flußhygiene zu erblicken haben.[2]

V. Über die Assimilation von Kohlehydraten durch die Diatomeen Nitzschia Palea und Navicula minuscula.

1. Versuche mit Gelatine.

Die interessanten Untersuchungen von Miquel[3] über die Chromatophorenreduktion der Diatomeen bei organischer Ernährung, im besondern bei der mit Kohlehydraten und Alkoholen, die sich durch »Farbloswerden« der Diatomeen im Lichte verriet, und die von Karsten[4] bei Licht- und Dunkelkulturen in mit Bakterien verunreinigten Nährmedien organischer Natur

---

[1] Fr. Ruttner, Mikroflora der Prager Wasserleitung. Arch. d. naturw. Landesdurchforsch. in Böhmen, 1906. Vergl. auch Fr. Oltmanns, l. c., II. Bd., p. 206.

[2] Es erscheint nicht unpassend, hier auf Marsson's Auffassung von der Mesosaprobennatur der *Nitzschia Palea* hinzuweisen.

[3] P. Miquel, II., l. c., p. 170.

[4] G. Karsten, l. c., p. 421 bis 424.

beobachtete Chromatophorenreduktion, beziehungsweise das festgestellte Verblassen und Ausbleichen der Chromatophoren ließen es wünschenswert erscheinen, die betreffenden Beobachtungen mit den rein gezüchteten Kieselalgen zu überprüfen.

Daß sich gerade, was das Verblassen anlangt, große Differenzen zwischen den Versuchen der genannten Forscher und meinen Beobachtungen ergaben, werden die folgenden Mitteilungen dartun, womit sie gleichzeitig als Stütze der früher geäußerten Anschauung von der Bakterientätigkeit beim Verblassen von Diatomeen angesehen werden können. Es sei mir nur noch gestattet, ein Zitat aus Karsten's Arbeit anzuführen, das im selben Sinne wirken dürfte:

»Das Glyzerin (2%) wird daher hier in mehr oder weniger hohem Grade zersetzt worden sein und seine Zersetzungsprodukte wurden von den Diatomeen aufgenommen. Als nun diese Individuen in eine frische Glyzerin-(2%) Nährlösung überimpft waren, fanden sie veränderte Verhältnisse vor, denen sie minder gewachsen waren. Sie antworteten mit Vergrößerung der stark reduzierten Chromatophoren. Mit der Zeit ging aber auch in den neuen Objektträgerkulturen eine Bakterienvermehrung und Glyzerinzersetzung von statten, die besonders nach Zufügung neuer Glyzerinnahrung sich steigerte, da die Bakterien nicht entfernt worden waren. Eine erneuerte Entfärbung der Diatomeen durch Verkleinerung und Abblassen ihrer Chromatophoren war die Folge.«

a) Versuchsanordnung.

Zu einer Stammgelatine der normalen Zusammensetzung 1000 *g* H_2O, 0·2 *g* K_2HPO_4, 0·2 *g* $MgSO_4$, Spur $FeSO_4$ wurde in dem Verhältnis, wie es Artari[1] tat, Erythrit, Mannit, Dulzit, Milchzucker, Traubenzucker, Lävulose, Rohrzucker, Maltose, Inulin und Glyzerin zugesetzt. Je acht Eprouvetten waren immer mit der gleichen Substanz gefüllt und je vier davon mit *Nitzschia Palea*, die vier anderen mit der *Navicula minuscula* geimpft worden. Es bestand also ein *Nitzschia*- ebenso wie ein *Navicula*-Versuch aus 44 Eprouvetten.

Indem ich nun die detaillierten Notizen über den Beobachtungsverlauf übergehe, verweise ich bloß auf die Photo-

[1] A. Artari, l. c., p. 204.

graphien (Nr. 4 und 5), die von dem am 6. Oktober 1903 geimpften Nitzschienversuch am 22. Oktober, vom *Navicula*-Versuch am 10. November hergestellt wurden. Es wurde dabei immer je eine Eprouvette von den vier gleich ausgefallenen einer Kolonne verwendet.

b) Versuchsergebnisse.

Die Betrachtung der Photographien wird schon folgendes klar erscheinen lassen, was am 15. Oktober beobachtet und notiert wurde:

1. Optima für das Gedeihen der Diatomee *Nitzschia Palea* bieten Mannit, Dulzit, Traubenzucker, Rohrzucker und Inulin.

2. Die *Nitzschia*-Kulturen zeigen in der Mannitgelatine bereits starke Einsenkungen, während sie bei den anderen Nährstoffen oberflächlich liegen. Es spricht dies für eine starke Produktion des gelatinelösenden Fermentes unter diesen Bedingungen.

3. Einsenkungen traten auch in der Erythrit- und Dulzitgelatine auf.

Da die Alkohol-, Erythrit-, Mannit-, Dulziternährung in Gelatine auffallende, die Glyzerinernährung mäßig starke Korosionen hervorbringt, die mit Lävulose und Milchzucker nur Spuren davon, bei Fütterung mit Inulin, Rohrzucker und Traubenzucker die Gelatine aber viel, viel später verflüssigt wird,[1] erscheinen im allgemeinen Alkohole dieser Verflüssigung günstiger zu sein.

4. Die Nährböden, die Milchzucker enthalten, scheinen für die *Navicula* nicht wesentlich fördernd auf das Wachstum einzuwirken, denn im großen und ganzen stimmen ihre Kulturbilder mit denen auf der Stammgelatine überein; dagegen kann man Milchzucker für die *Nitzschia* und Lävulose für beide

---

[1] Vergl. Auerbach's in Bezug auf Zucker ähnlich lautende Erfahrungen mit Pilzen und Bakterien. Archiv d. Hygiene, XXXI, 4.

Diatomeen in der betreffenden Konzentration als wachstumshemmend bezeichnen.

5. Die Färbung der Nitzschien auf Inulin-, Mannit- und Dulzitgelatine ist besonders intensiv braun.

6. Was eben von der *Nitzschia Palea* gesagt wurde, gilt mutatis mutandis auch für die *Navicula minuscula*. Auch sie fördert der Mannit, doch ist die Gelatinelösung nicht in der gleichen Zeit zu bemerken. Traubenzucker scheint nicht besonders günstig. Wegen des langsameren Wachstums wurde der *Navicula*-Versuch erst am 10. November photographiert.

2. Versuche mit Nährlösungen.

a) Versuchsanstellung.

Auch hier dürfte die Versuchsanstellung aus dem bereits Mitgeteilten und mit Berücksichtigung der Tabellen verständlich sein. Ich erwähne nur, daß ich wie bei den Stickstoffversuchen die Paraffinauskleidung unterließ. Im ersten Versuch unterblieb noch ein Zusatz von $CaSi_2O_5$, im zweiten wurde je 0·05% $CaSi_2O_5$ zugesetzt. Im ersten großen Versuch wurden Kölbchen mit je 70, im zweiten mit je 100 cm^3 Stammlösung verwendet. Die Stammlösung war natürlich eine komplette anorganische Nährlösung, im ersten Falle ohne, im zweiten mit Ca- und Si-Zusatz. Neben dem ersten Versuch wurde mit den damals verwendeten Flüssigkeiten auch ein Eprouvettenversuch von 44 Eprouvetten mit *Nitzschia Palea* geimpft. Doch hat sich diese Art der Versuchsanstellung wegen der zu geringen Salzmengen, die dann in 10 cm^3 Flüssigkeit vorkommen, als unpraktisch herausgestellt.

b) Die Tabellen zu den durchgeführten Kohlehydratversuchen

finden sich auf Tafel IV.

c) Zusammenfassung der Ergebnisse der Kohlehydratversuche mit Nährlösungen an Nitzschia Palea.

1. In übereinstimmender Weise macht sich die fördernde Wirkung von Inulin, Mannit, Dulzit und Rohrzucker geltend. Im zweiten Versuche kommt dazu noch die durch Traubenzucker, Glyzerin und Glykogen. Für die kleinen Differenzen möchte ich die $CaSi_2O_5$-Zusätze beim zweiten Versuche verantwortlich machen. Die Förderung zeigt sich immer bereits darin, daß tagelang, bevor man in der Stammlösung auch nur eine Spur von Entwicklung wahrnahm, in den Kölbchen mit den gewissen Zusätzen zum mindesten schöne Kolonien, wenn nicht dichte Beläge von Diatomeen beobachtet werden konnten.

2. Lävulose und Maltose scheinen ungünstig zu wirken,

3. Milchzucker und Galaktose indifferent zu sein.

4. Auch die Ergebnisse des Eprouvettenversuches stehen damit in gutem Einklang.

5. Im Inulin und Traubenzucker erscheinen die Nitzschien tiefer braun. Es scheint also eine Förderung in der Phäophyllbildung[1] bei Ernährung mit diesen Stoffen einzutreten.

6. Beachtenswert ist wieder die Tatsache, daß die verschiedenen Konzentrationen, in denen die Zusätze erfolgten, ähnlich wie bei den Stickstoffversuchen für die Entwicklung von ausschlaggebender Bedeutung sind. So scheint *Nitzschia Palea* beim Rohrzucker die höheren, bei Glyzerin die tieferen Konzentrationen vorzuziehen, während ihr beim Mannit gerade die verwendete mittlere Konzentration von $0 \cdot 5\%$ am meisten zusagt.

7. Auffallend ist der geringe Ertrag beim Erythrit in Anbetracht der früher mitgeteilten Gelatineversuche. Während nämlich in allen anderen Punkten eine schöne Harmonie zwischen diesen und den neuen Versuchen besteht, muß man sie hier um so mehr vermissen. Wenn also nicht irgend ein Versuchsfehler mit hereingespielt hat, so wäre daran zu denken,

---

[1] H. Molisch, Über den braunen Farbstoff der Phäophyceen und Diatomeen. Bot. Zeitg., 1905, p. 131.

daß es auch bei der *Nitzschia Palea* nicht gleichgültig ist, welche Stickstoffquelle ihr neben der Kohlenstoffquelle geboten wird. Hier war der Stickstoff als Kaliumnitrat vorhanden, dort aber stand ihr der organisch gebundene Stickstoff der Gelatine zur Verfügung. Daß eine solche Beziehung zwischen Stickstoff- und Kohlenstoffquelle bestehen könnte, geht ja schon aus der Fülle von Erfahrungen an anderen Mikroorganismen,[1] auch an Grünalgen[2] hervor, wo es auch nicht gleichgültig blieb, ob man bei Zuckerernährung Pepton oder Nitrat, bei Nitraternährung Glykose oder Saccharose verwendete. Hier müßten neue umfassende Versuche einsetzen, wobei die »Verschiebung des Nahrungsbedarfes mit anderen Lebensbedingungen«[3] nicht außer Acht gelassen werden dürfte.

8. Die bleichende Wirkung von Mannit und Kalisalpeter, wie sie Artari[4] bei Grünalgen fand, und die Chromatophorenreduktion, wie sie Miquel[5] in Zucker, Glyzerin, Alkohol, Salzen organischer Säuren und in Karbolsäure[6] und Karsten[7] in seinen Nährmedien bei Diatomeen feststellten, konnte in analogen Versuchen bei meinen Diatomeenreinkulturen nie beobachtet werden.

Die Ergebnisse beider Versuchsreihen über die organische Ernährung der rein gezüchteten Diatomeen lassen also folgende kurze Fassung zu.

Beide Diatomeen vermögen außer der Kohlensäure der Luft im Lichte auch den organisch gebundenen Kohlenstoff zu assimilieren.[8]

---

[1] F. Lafar, l. c., II. Aufl. 1904, Bd. III, H. 1, p. 14.

[2] Fr. Oltmanns, l. c., II. Bd., p. 158 bis 159.

[3] W. Benecke, l. c., p. 568.

[4] A. Artari, l. c., p. 204.

[5] P. Miquel, II., l. c., p. 170.

[6] P. Miquel, III., l. c., Juin-Juillet 1892, p. 13.

[7] G. Karsten, l. c., p. 409 bis 412. Man vergleiche das bei den Stickstoffversuchen Gesagte.

[8] Man vergleiche damit die Abhängigkeit der farblosen Diatomeen von der organischen Ernährung in W. Benecke, l. c., p. 568.

VI. Über das Verhalten der Diatomeen Nitzschia Palea und Navicula minuscula gegen den atmosphärischen und den von der Nährsubstanz absorbierten Sauerstoff.

Die Meinungen über das Sauerstoffbedürfnis der Diatomeen sind sehr geteilt. Während beispielsweise auf der einen Seite Macchiati[1] für ein solches eintritt, wird es auf der anderen Seite von Miquel[2] auf das allerentschiedendste bestritten.

Macchiati behauptet geradezu, daß die Diatomeen den O wie die Bakterien an der Oberfläche holen kommen.

»On ne trouve rien à cet égard, si ce n'est cette découverte, qui fera peu dejáloux, que les diatomées ont besoin d'oxygène libre pour vivre, et qu'elles viennent le chercher à la surface des liquides, comme les bactéries. D'abord, il n'est pas exact que les diatomées viennent à la surface des cultures, elle vivent au contraire dans les depôts et contre les parois submergées des vases; d'autre part, les botanistes avaient cru ques les diatomées loin d'avoir besoin d'oxygène gazeux en dégagaient comme élement résiduaire de leur nutrition —«.[2]

Der Sauerstoff soll nach Miquel[3] bloß die Aufgabe haben, die Diffusion gewisser in seinen Kulturen entstehender schädlicher Gase zu verhindern.

»L'accès de l'air, à la surface du liquide des cultures est necessaire, non pour fournir des éléments fécondants aux diatomées, mais surtout pour amener la diffusion de certaines gaz toxiques, notamment de l'hydrogène sulfuré qui se produit toujours dans les cultures ordinaires, et que l'oxygène transforme aussi partiellement, en eau, soufre et acide sulfurique«.

Ergänzend sei noch erwähnt, daß Benecke[4] bei seinen farblosen Diatomeen positive Aërotaxis beobachtet hat, die sich in geradezu auffallender Weise bei diesen interessanten Organismen schon nach viertelstündigem Verweilen im Hängetropfen zeigen soll.

---

1 L. Macchiati, zitiert nach Miquel's Brief in »Le Diatomuste«, Bd. I, 1892, p. 119.

2 P. Miquel, l. c., Brief an Macchiati. Vergl. 1, p. 119.

3 P. Miquel, II., l. c., p. 95.

4 W. Benecke, l. c., p. 554 und 558.

Nach Engelmann[1] brauchen die Diatomeen Sauerstoff für ihre Bewegungen.

Meine Untersuchungen über das Sauerstoffbedürfnis der Diatomeen kranken nun an demselben Fehler wie die Miquel's: sie sind bloß im Lichte durchgeführt, aus dem einfachen Grunde, weil es mir ebensowenig wie Miquel gelang, Dunkelkulturen meiner Diatomeen zu erzielen. Karsten,[2] der Dunkelkulturen besaß, hat diese Frage nicht weiter berührt. Im Lichte kommen die Diatomeen auch ohne Sauerstoffzufuhr aus. Impft man beispielsweise in flüssige Gelatine einer Eprouvette, schüttelt kräftig und läßt nachher erstarren, so bemerkt man bei günstiger Beleuchtung schon nach 3 bis 4 Tagen die ersten Kolonien. Es zeigt sich nun, daß auch einige bis fast am Grunde der Eprouvette auftreten und sich prachtvoll entwickeln. Der Versuch glückt mit *Navicula minuscula* ebenso glänzend wie mit der *Nitzschia Palea*, mit Agar ebensogut wie mit Gelatine.

Diese Kolonien waren also von einer hohen Gelatine-, beziehungsweise Agarsäule überschichtet, somit vom O sozusagen abgesperrt und dennoch entwickelten sie sich normal. Bei dieser Versuchsanordnung wird man gewöhnlich einen Ring dicht gedrängter Diatomeenkolonien etwa 0·5 *cm* unter dem Gelatine-, beziehungsweise Agarmeniskus wahrnehmen können, so daß man zur Meinung kommt, daß Diatomeen auch im Lichte eine gewisse Sauerstoffspannung besonders zusagt, wenn diese Erscheinung nicht bloß eine Folge der in der Versuchsanordnung gelegenen Dichtsaat in den obersten Schichten der Gelatine und des Agars ist. Man müßte sich etwa vorstellen, daß für größere Mengen der Kieselalgen die absorbierte O-Menge der tieferen Gelatine-, beziehungsweise Agarschichten nicht ausreicht, so daß es unten zur Bildung nur vereinzelter Kolonien kommen kann, die sich dann konkurrenzlos und mit Hilfe des selbst erzeugten O desto

[1] W. Th. Engelmann, Über Licht- und Farbenperzeption niederster Organismen. Arch. f. Phys. von Pflüger, 1882, *29*, p. 387. Über die Bewegungen der Oxillarien und Diatomeen. Bot. Ztg., XXXVII, 1879, p. 49.

[2] G. Karsten, l. c.

besser entwickeln. Dafür spräche auch das späte Sichtbarwerden und die langsamere Entwicklung dieser Kolonien. Versuche im Lichte in Eprouvetten über Pyrogallussäure wurden bisher noch nicht durchgeführt, auch verspreche ich mir kaum ein anderes Resultat. Die Diatomeen kommen eben im Lichte unter Umständen mit dem von ihnen selbst bei der Assimilation erzeugten Sauerstoffe aus. Nitzschien in Agar unter Deckglas mit luftdichtem Abschlusse aus venetianischem Terpentin wenigstens hielten sich im Lichte monatelang am Leben. Die bisherigen Versuche im Lichte würden also gegen ein starkes O-Bedürfnis im Lichte sprechen, immerhin aber die Anpassung der Diatomeen an eine bestimmte O-Spannung wahrscheinlich machen.

Die exakte Beantwortung der Frage nach der obligaten oder fakultativen Aërobiose wird aber erst möglich sein, wenn jene Kombination organischer, beziehungsweise anorganischer N-Quellen bei geeigneter C-Zufuhr gefunden sein wird, die bei Ausschluß von Bakterien das Wachstum der Diatomeen auch im Dunkeln gestattet.

VII. Die Reaktion der Nährlösung und des Nährbodens.

Nur vorübergehend wurde bisher bei verschiedenen Gelegenheiten dieses Kapitel gestreift, so bei den Kalk-Kieselsäure-Versuchen, wo sich herausgestellt hat, daß in keiner Flüssigkeit, zu der irgend ein saures Salz des Ca zugesetzt wurde, eine Diatomeenentwicklung zu beobachten war, und bei früherer Gelegenheit,[1] wo die Darstellung der Nährböden behandelt wurde.

Miquel[2] hat für Diatomeen, Molisch[3] für niedere Grün- und Blaualgen eine schwach alkalische Reaktion in der Regel

---

[1] Oswald Richter, l. c., p. 496.

[2] P. Miquel, II., l. c., 1892, p. 119. — P. Miquel, III., l. c., 1892, Juin-Juillet, p. 9, 11, 13, 14.

[3] H. Molisch, IV., l. c., 1896, p. 634.

für notwendig gefunden. Für Diatomeen wurden diese Beobachtungen von Benecke,[1] Karsten[2] und mir[3] bestätigt.

Neue Versuche wurden, abgesehen von jenen Experimenten, wo ich mich mit Hilfe der Erzeugung negativer Auxanogramme von der Schädlichkeit gewisser saurer Salze wie des sauren essigsauren Ammoniaks u. dgl. überzeugte, wovon später noch die Rede sein wird, in der folgenden Weise durchgeführt:

1. Saure Gelatine, wie sie durch Auflösen der käuflichen Gelatine in destilliertem Wasser erzielt wird;

2. schwach saure Gelatine, erhalten durch Behandlung der ersten mit Natronlauge;

3. mit Natronlauge neutralisierte

4. und damit schwach alkalisch gemachte;

5. mit Natronlauge etwas alkalischer gemachte Gelatine

wurden geklärt und von jeder Portion je 2 × 4 Strich- und 2 × 4 Stichkulturen vorbereitet.

Zur Kontrolle dienten ebensoviele Kolonnen einer mit Nährsalzen versehenen Gelatine in den verschiedenen Stadien der Neutralisierung und Alkaleszenz.

Zur Impfung wurde *Nitzschia Palea* und *Navicula minuscula* verwendet.

Das Resultat war, kurz gefaßt, folgendes:

1. In der sauren Gelatine fand überhaupt kein Wachstum statt, auch nicht in der schwach sauren, ob sie nun Nährsalze führte oder nicht.

2. In der neutralen Gelatine kam vereinzelt schwache Entwicklung vor. Die Impfmassen waren braun und blieben am Leben.

3. Dagegen war in »schwach« und »etwas« alkalisch gemachter Gelatine ein lebhaftes Wachstum zu bemerken, ob nun Nährsalze zugesetzt wurden oder nicht.

Bei Berücksichtigung dieser Ergebnisse erscheinen gewisse Angaben Miquel's und Karsten's in einem ganz andern Lichte.

---

[1] W. Benecke, l. c., p. 564.

[2] G. Karsten, l. c., p. 412.

[3] Oswald Richter, l. c., p. 496.

Wenn wir bedenken, daß bei den SiO_2-Ca-Versuchen des I. und II. Kapitels sich gerade $CaSi_2O_5$, $K_2Si_2O_5$ und $Na_2Si_2O_5$ bei geeigneter Konzentration, letztere bei Vorhandensein von Ca, als hervorragende Förderer des Diatomeenwachstums erwiesen haben, dann können wir Bemerkungen Miquel's,[1] wie:

Er gebe niemals alkalische Silikate in seine Kulturen.

Tatsächlich übe der zehnmillionste Teil eines Alkalisilikates einen schädigenden Einfluß auf die Diatomeen aus, indem Silikate die Entwicklung hemmen, wenn sie sie nicht aufheben:

1. weil sie die Flüssigkeit zu stark alkalisieren, wodurch die Lösung des Bicarbonates des Ca der Flüssigkeit verhindert würde und sie die Ausfällung des Ca als neutrales $CaCO_3$ bedingten;

2. weil CaO und MgO, die in ihren löslichen Verbindungen für Diatomeen günstig seien, in den unlöslichen Zustand der Silikate umgewandelt würden;

3. weil sich die alkalischen Silikate von selber im Kontakt mit der Luft und unter Einfluß der CO_2 zersetzen, wobei sie gelatinöse Kieselsäure und alkalische Carbonate liefern, die den Diatomeen schädlich seien;

4. weil diese Silikate die Bakterienentwicklung fördern.

M. Peragallo, ein französischer Diatomeenkenner, habe erkannt, daß $Na_2Si_2O_5$ keine begünstigende Wirkung habe, er aber stelle dessen Schädlichkeit fest —

nur so verstehen, daß er zu viel der Silikate bei der Überprüfung von deren Zweckmäßigkeit den Mazerationsflüssigkeiten zusetzte. Es sei daran erinnert, daß $K_2Si_2O_5$ in meinen Versuchen bei 0·01% ausgezeichnete Resultate gab, bei 0·05% dagegen bereits völlig versagte, wobei sich die Nährlösung als ungemein stark alkalisch gemacht erwies.

Ebenso dürfte die Reaktion der Nährlösung die Mißerfolge Karsten's[2] mit organischen Kalium- und Calciumsalzen erklären, wenigstens erwähnt er nicht ausdrücklich, ob er das neutrale oder saure äpfelsaure Kalium u. s. f. verwendet habe.

Es ist auch sehr wohl denkbar, daß die angebliche Schädlichkeit der NH_4-Verbindungen,[3] wie sie Miquel wiederholt betont, und die tatsächliche des (sauren?) Ammoniumacetates[4]

---

[1] P. Miquel, II., l. c., p. 119, vergl. XII., 1, *c*).

[2] G. Karsten, l. c., p. 412.

[3] Vergl. das Kapitel »Stickstoff«.

[4] P. Miquel, I., l. c., p. 780.

durch Berücksichtigung der Reaktion eine befriedigende Deutung findet.

Nach dem Mitgeteilten kann man also heute als feststehend gelten lassen:

Die Diatomeen benötigen eine schwach alkalische Reaktion, ein Zuviel ist hier ebenso von Übel wie ein Zuwenig.[1]

VIII. Einfache Rezepte zur Darstellung einer Nährgelatine für Diatomeen.

Außer der obenstehenden Folgerung lassen sich die Resultate des früher wiedergegebenen Gelatineversuches noch in einer andern Richtung hin auswerten. Mit Berücksichtigung derselben vereinfacht sich nämlich die Darstellung einer Nährgelatine für Diatomeen ganz außerordentlich. Das neue Rezept lautet:

Man mache eine zehnprozentige Gelatine in destilliertem Wasser mit Natronlauge schwach alkalisch und kläre die warme Lösung mittels Eiweiß.

Da nun, wie sich in den Kapiteln über Kieselsäure und Kalk herausgestellt hat, die genannten Stoffe wachstumsfördernd wirken, sei folgendes zweite Rezept empfohlen:[2]

---

[1] Da nach Fr. Oltmanns, l. c., II. Bd., p. 133, bisher keine Beobachtungen in dieser Hinsicht über Meeresalgen gemacht worden sein sollen, erlaube ich mir mitzuteilen, daß meine bisherigen Beobachtungen an Meeresdiatomeen, die vorläufig in Kochsalz-Agar in Kultur sind, auch auf ein Bedürfnis derselben nach schwach alkalischer Reaktion hindeuten.

[2] Für Agar gilt mutatis mutandis das gleiche.

Sehr gut hat sich dafür folgende Zusammensetzung bewährt:

1000 Teile	destilliertes Wasser
18 *g*	Agar
0·2 *g*	$CaCl_2$
0·2 *g*	KNO_3
0·05 *g*	$MgSO_4$
0·01 *g*	$K_2Si_2O_5$
Spur	$FeSO_4$

Bezüglich Wässerung des Agars vergl. meine frühere Arbeit.

Ein derartiges, gut gewässertes, mit Mineralsalzen versehenes Agar wird in der Folge Mineralsalzagar genannt.

Man setze zu einer zehnprozentigen Gelatine in destilliertem Wasser 0·01% $K_2Si_2O_5$ und 0·02% $CaCl_2$, mache mit Natronlauge alkalisch und kläre die warme Lösung mit Eiweiß.[1]

IX. Der Einfluß verschiedener Kochsalzkonzentrationen auf das Wachstum der beiden kultivierten Diatomeen.

Nach Oltmanns[2] sind »die Diatomeen Kosmopoliten und im Süß- wie im Seewasser überall verbreitet. Mögen auch viele von ihnen ausschließlich auf die See und andere ebenso ausschließlich auf das Süßwasser angewiesen sein, so sind doch auch gewisse Formen der Gruppe Ubiquisten; nicht bloß kommen Spezies einer marinen Gattung im Süßwasser vor und umgekehrt, sondern es gedeihen auch viele Arten in beiderlei Gewässern gleich gut und gehen unschwer aus dem einen in das andere über«.

Mit Berücksichtigung dieser Tatsachen erscheint es von vornherein nicht unwahrscheinlich, daß es auch gelingen dürfte, die Nichtubiquisten an immer höheren Kochsalzgehalt zu gewöhnen, beziehungsweise des hohen ClNa-Gehaltes der Kulturflüssigkeit entwöhnen zu können, mit andern Worten Süßwasser- als Meeres- und Meeres- als Süßwasserdiatomeen zu ziehen.

Gelegentliche Beobachtungen nach dieser Richtung machte A. Richter.[3] Er fand bei seinen systematisch angelegten Kulturen mit Grünalgen Diatomeen auch in 10prozentigen Lösungen, in denen sie sich länger als einen Monat und öfter in 7prozentigen Lösungen, wo sie sogar ein Jahr am Leben blieben. Leider hat er keine einzige von diesen Diatomeen bestimmt. In dieselbe Zeit fallen die Untersuchungen von Miquel über die Kochsalzwirkung auf Süßwasserdiatomeen, wobei er besonders den Gedanken verfolgte, den Kochsalzzusatz als Mittel zur Reingewinnung gewisser Diatomeenspezies zu benützen:

---

[1] Wie sehr vereinfacht diese Rezepte sind, lehrt am besten ein Vergleich mit Miquel's Kulturformeln, l. c., II, p. 95.

[2] Fr. Oltmanns, l. c., I. Bd., p. 91.

[3] A. Richter, Über Anpassung der Süßwasseralgen an Kochsalzlösung. Flora, 1892, p. 4—56.

»Si on veut établir la prédominauce des cyclotelles, il foudra ajouter aux[1] liquides de cultures 4 à 5 et même 10 p. 1000 de chloruré de Sodium.« —[1]

Er war also bei seinen Experimenten bis 1%, bei anderer Gelegenheit bis 4%[2] ClNa-Gehalt gekommen. Diese und ähnliche Befunde veranlaßten Tempère und ihn[3] dann, das Problem:

»Les Diatomées sont elles d'origine marine ou d'eau douce?«

aufzurollen.

Besonderes Interesse verdienen dabei die teratologischen Formen,[4] die Miquel bei diesen Untersuchungen unterkamen.

In jüngster Zeit hat Techet[5] auch gelegentliche Angaben über die Widerstandsfähigkeit mariner Bazillarien gegen hohen Kochsalzgehalt der Kulturflüssigkeit gemacht. Darnach ist 13·2% Salzgehalt (daraus müßte erst der ClNa-Gehalt berechnet werden) für die Kieselalgen zu viel. 8·5% Salzgehalt wurde noch recht gut ertragen, zahlreiche Arten aber befanden sich bei 1·8% Salzgehalt wohl, was also rund 1% ClNa entspricht.

Hier begegnen sich seine Angaben über marine Formen mit meinen an *Nitzschia Palea* gemachten Erfahrungen. Da auch er keine genaueren Angaben über die beobachteten Formen macht, so wird hier gewiß später noch einmal die experimentelle Physiologie einsetzen können.[6]

Meine eben angeführten Versuche[7] habe ich nun wiederholt und auch auf die *Navicula minuscula* ausgedehnt; auf eine ins Kleine eingehende Wiedergabe glaube ich aber verzichten zu dürfen, wenn ich auf die Photographie Nr. 2 verweise. Sie stellt einen *Nitzschia*-Versuch dar und beweist, daß bis auf 1·5% Kochsalz ein makroskopisch sichtbares Wachstum

---

1 P. Miquel, II., l. c., p. 127.

2 P. Miquel, II., l. c., p. 95.

3 P. Miquel, II., l. c., p. 171.

4 P. Miquel, II., l. c., p. 99 und 171.

5 K. Techet, Verhalten einiger mariner Algen bei Änderung des Salzgehaltes. Österr. bot. Zeitschr., Jg. 1904, Nr. 9 u. ff., p. 313.

6 Die einschlägige Literatur vergl. im übrigen in Fr. Oltmanns, l. c., II. Bd., p. 177—182.

7 Oswald Richter, l. c., p. 504.

stattgefunden hat, daß aber schon 2% ClNa offenbar die obere Grenze der Anpassungsmöglichkeit bei direkter Impfung von »kochsalzfreier« Gelatine aus darstellt. Ähnlich fielen die Versuche mit *Navicula minuscula* aus, ebenso glichen alle Wiederholungen der Experimente dem photographierten Versuch im Aussehen, so daß wir als Ergebnis dieser Versuchskolonnen den Satz aussprechen können:

Impft man die kultivierten Diatomeen von gewöhnlicher Gelatine auf solche verschiedenen Kochsalzgehaltes, so vermögen sie 1·5% ClNa noch ohne Schwierigkeit zu ertragen, während 2% Kochsalz als obere Grenze gelten kann.[1]

Aber auch bei weiteren Versuchen, die darauf abzielten, durch aufeinanderfolgendes Übertragen der Diatomeen aus Gelatinekulturen höheren ClNa-Gehaltes auf solche noch höheren, war über 2% ClNa nicht hinauszukommen, so daß man sagen kann, daß von einer Gewöhnung der *Nitzschia Palea* und *Navicula minuscula* an einen so hohen Kochsalzgehalt, wie ihn A. Richter[2] für gewisse Formen als unschädlich fand, wenigstens unter den obwaltenden Verhältnissen, wie sie in einer Gelatinekultur gegeben sind, nicht die Rede sein kann.

Anschließend an die Experimente, deren Ergebnis ich eben mitgeteilt habe, wurden Versuche durchgeführt, bei denen die Diatomeen aus Kulturen höheren auf Gelatine niederen Kochsalzgehaltes überimpft wurden.

Es wurden also eine größere Anzahl Versuchskolonnen gleichzeitig hergerichtet, wobei die Diatomeen aus 1·5%, 1%, 0·5% ClNa, beziehungsweise auf 1%, 0·5%, 0% ClNa-Gelatine übertragen wurden. Das Resultat war stets herrliches Wachstum. Und eine vorherige langsame Entwöhnung von dem höheren Kochsalzgehalt war nicht nötig.

Auch mit speziesreinen Meeresdiatomeen, deren ich zwei auf einem Kochsalzagar[3] in Kultur habe, habe ich den Techet-

---

[1] JK wird bis 0·25% ertragen, vergl. XII, 3, *d*), p. 92.

[2] A. Richter, l. c.

[3] Ein Agar von der Zusammensetzung, wie ich sie in meiner früheren Arbeit p. 496 oder wie jetzt im Kapitel VIII angegeben habe, mit 3% Kochsalzzusatz leistet vortreffliche Dienste bei der Zucht von Meeresdiatomeen.

schen Versuchen analoge Experimente ausgeführt und bin dabei wie Techet[1] bis auf 1% ClNa-Gehalt herabgekommen. Wenn man die interessanten Beobachtungen Gran's[2] im Polarmeer in Betracht zieht, ist es nicht unwahrscheinlich, daß man bei gewissen Diatomeenformen wird noch tiefer herabgehen können.

Wie erwähnt, sind meine derzeitigen Meeresdiatomeenkulturen noch mit Bakterien verunreinigt, aber auch schon unter diesen Verhältnissen wird sich die Frage nach der Bedeutung des ClNa für sie beantworten lassen und man wird Experimente über dessen osmotische Wirkung, seine eventuelle Ersetzbarkeit durch $MgCl_2$ etc. machen können u. dgl. m., wie das in ähnlicher Weise von Molisch[3] mit seinen halophilen Leuchtbakterien durchgeführt wurde. Die Resultate dieser Untersuchungen sollen in einer späteren Arbeit über die Physiologie der Diatomeen, Diatomeen des Meerwassers, veröffentlicht werden. Desgleichen soll, wenn mir die Entfernung der Bakterien gelingen sollte, die Assimilierbarkeit von organischen N- und C-Verbindungen durch Meeresdiatomeen eine eingehende Bearbeitung erfahren.

Wenn wir also die Erfahrungen über die Versuche mit ClNa zusammenfassen, so ließen sich die betreffenden Resultate etwa, wie folgt, wiedergeben:

Die beiden reinkultivierten Süßwasserdiatomeen wachsen in 0·5%, 1%, 1·5% ClNa-haltiger Gelatine sehr gut, doch sind sie weder bei direkter Impfung noch durch langsame Gewöhnung über 2% ClNa in der Gelatine hinauszubringen. Die Rückimpfung auf Gelatine niederen Kochsalzgehaltes bringt stets eine prachtvolle Entwicklung hervor. Eine Gewöhnung an den niederen Kochsalzgehalt ist dabei unnötig. Gewisse Meeresdiatomeen zeigen auf Agar mit bloß 1% ClNa sehr schöne Entwicklung.

---

1 K. Techet, l. c.

2 Gran zitiert nach Fr. Oltmanns, l. c., II. Bd., p. 179. Vergl. hier auch die übrige Literatur.

3 H. Molisch, Leuchtende Pflanzen. Eine physiologische Studie. Jena, Verl. von Gustav Fischer, 1904, p. 87—88.

X. Auxanogramme.

Wie bekannt, hat Beijerinck[1] zum ersten Male zur Beurteilung eines Stoffes als Nährstoff für Bakterien und Pilze die Auxanogramm-Methode empfohlen. Man stellt sich eine Plattenkultur her mit einem Nährboden, auf dem die Organismen bald Hunger leiden würden. Hat man geimpft, so gibt man den fraglichen Stoff in Körnchenform auf die Platte.

Ist der Stoff ein Nährstoff, so wird bald entsprechend der gebildeten Diffusionszone ein lebhaftes Wachstum unmittelbar bei ihm und in der nächsten Umgebung stattfinden: Beijerinck's positives Auxanogramm. Umgekehrt wird ein Giftstoff in seiner Umgebung, wenn er unmittelbar nach der Impfung auf die Kulturplatte übertragen wird, ein Aufkommen der geimpften Organismen nicht gestatten: Beijerinck's negatives Auxanogramm.

Positive Auxanogramme[2] mit Diatomeen zu erhalten, ist bedeutend schwieriger als die Erzielung der negativen. Das hat seinen Grund in der schon angedeuteten Genügsamkeit dieser Algen. Da selbst ein gut gewässertes Agar ohne jeden Zusatz eine schwache Entwicklung gestattet, wird natürlich die Verwendung von einem Agar auch mit den geringsten günstigen Zusätzen schon eine reichliche Diatomeenentwicklung hervorrufen und so das ganze Bild undeutlich und unklar machen. Das war hauptsächlich der Grund meiner anfänglichen Mißerfolge nach dieser Richtung. Auch pflegt man im Anfang gern zu viel Substanz zu nehmen, wodurch, wie schon Beijerinck hervorhebt, das Diffusionsfeld zu groß wird und sich eventuell über die ganze Schale verbreitet. Will man mit Diatomeen (Nitzschien) diese interessanten Versuche Beijerinck's wiederholen, so verwende man ein gut in fließendem Leitungs-

---

[1] M. W. Beijerinck, L'auxanographie ou la méthode de l'hydrodiffusion dans la gélatine appliqué aux recherches microbiologiques. (Extr. des Archiv Néerlandaises, t. XXIII, p. 367—372.) Ref. Zentr. f. B. u. P., 1893, II. Abt., 7. Bd., p. 347.

[2] Die Impfung muß wie bei den negativen Auxanogrammen reichlich sein und zu einer Dichtsaat führen.

6*

wasser gewässertes Agar, das auch noch einen Tag in destilliertem Wasser ausgespült wurde, und gebe auf die Agarplatte ein Stückchen $CaCO_3$, $CaSO_4$ oder ein winziges Tröpfchen einer $Ca(NO_3)_2$-Lösung. Man wird dann gewöhnlich nach 14 Tagen nur an der betreffenden Stelle eine Diatomeenentwicklung beobachten können, einen Befund, den man sehr wohl als Stütze der Notwendigkeit des Ca für Diatomeen ausnützen könnte.

Als positive Auxanogramme darf man wohl auch mit Recht die Bilder bezeichnen, die man in Nährlösungen, zu denen $CaSi_2O_5$-Stücke zugesetzt werden, beobachten kann. Wie schon erwähnt, bedecken sich anfangs nur diese mit den braunen Diatomeenmassen und sind auch noch immer braun von dem gehäuften Phäophyll, wenn ringsum alle Diatomeen abgestorben sind.

Negative Auxanogramme. Zur Erzeugung derselben ist es bloß nötig, sich an die Tatsache von der Zweckmäßigkeit einer alkalischen Reaktion des Substrates bei Diatomeen zu erinnern. Alles somit, was sauer wirkt, Säuren und saure Salze, muß schädlich[1] sein und man wird um die Spur des verwendeten Giftes auf gutem »anorganischen« Nähragar einen hellen Fleck ohne jede Diatomeenentwicklung erhalten. Solche negative Auxanogramme gelang mir hervorzurufen: mit Ammoniumacetat, Monokaliumphosphat, saurem Calciumphosphat und einem säureabsondernden Penicillium.

Als negative Auxanogramme sind aber auch jene Kulturbilder aufzufassen, die man erhält, wenn man über eine sterilisierte Münze, sei es aus Nickel, sei es aus Kupfer, frisch geimpftes Agar zu einer Platte ausgießt.

XI. Versuche über Oligodynamie.

Wie bekannt, hat Nägeli[2] nachgewiesen, daß Metalle in unendlich kleinen Quantitäten (1 Teil Cu auf 1000 Millionen Teile Wasser) auf Spirogyren bereits giftig wirken. Seine Ver-

---

[1] Vergl. Kapitel VII und Miquel, III, l. c., Juin—Juillet 1892, p. 2.

[2] C. v. Nägeli, l. c.; vergl. auch Fr. Oltmanns, l. c., II. Bd., p. 184.

suchsanstellung war dabei die, daß er hohe Kulturgläser mit Fluß-, Leitungswasser oder Nährlösung füllte und die Münze oder Metallspäne u. dgl. in die Flüssigkeit hereinbrachte, darin ließ oder wieder herausnahm. Es zeigte sich dann, daß die Spirogyren durch die unwägbaren ionisierten Metallmengen abgetötet wurden.

Für Diatomeen kann man zur Demonstration der Oligodynamie sehr gut Agarkulturen verwenden und so diese merkwürdige Erscheinung auch dem Laien unmittelbar verständlich machen. Ich verweise auf die Photographie Nr. 6. Sie zeigt ein Zwanzigheller-Nickelstück in einer Petrischale in Agar eingebettet. Die Münze war ohne vorhergehende besondere chemische Reinigung in der trockenen Petrischale sterilisiert worden, worauf nach dem Abkühlen für Dichtsaat geimpftes Agar in die Schale und über die Münze gegossen wurde. Die bei günstiger Beleuchtung gehaltenen Kulturen zeigen schon nach 9 Tagen das negative Auxanogramm um die Nickelmünze herum recht gut und nach 14 Tagen etwa ist eine solche Kultur demonstrierbar und kann eventuell photographiert werden.

Bei der Versuchsanstellung war ich immer darauf bedacht, daß die Lichtstrahlen des diffusen Tageslichtes möglichst senkrecht auf die Platte fielen; dazu wurden die Schalen ans Fenster gehängt.

Der entstandene Ring erklärt sich offenbar so, daß jene unwägbaren und unnachweislichen Mengen des Metalls, die sich im Agar lösen und eventuell zu spurenweiser Salzbildung führen, alle Diatomeen der Dichtsaat in der Umgebung der Nickelmünze töten, so daß nur außerhalb des oligodynamischen Giftbereiches eine Entwicklung stattfinden konnte. Wenn dies richtig ist, dann müßte eine Zehnhellermünze, die etwa die Hälfte Ni enthält, ein um die Hälfte kleineres Auxanogramm liefern. Das trat wirklich ein. Diese Versuche sind wiederholt mit demselben Ergebnis gemacht worden. Kupfer-, z. B. Hellermünzen, mußten wegen der stärkeren oligodynamischen Wirkung dieses Metalles auch von einem größeren Auxanogramm umgeben sein und bei den Zweihellerstücken ist die Giftzone schon so groß, daß sie die ganze Schale umfaßt und überhaupt alle Diatomeen getötet werden.

Eine merkwürdige Erscheinung kann man auch beobachten, wenn man die zu verwendenden Münzen zunächst in konzentrierter Salpetersäure wäscht, dann in destilliertem Wasser abspült und nachher erst mit der Petrischale sterilisiert. Die erzeugten negativen Auxanogramme werden nämlich unter diesen Umständen gewöhnlich fast doppelt so groß, wenn nicht größer. Der Grund kann meiner Meinung nach entweder darin liegen, daß trotz des sorgfältigen Abspülens in Wasser etwas Säure an den Münzen haftet, oder darin, daß sich etwas des leichter löslichen Nitrates gebildet hat, oder endlich darin, daß die Fett- und Schmutzschichte der Gebrauchsmünze entfernt worden ist, so daß die Metalle nun um so leichter, mit dem Agar in Berührunng, ihre oligodynamische Wirkung geltend machen können. Sei dem, wie es will, unangenehm bleibt für die Demonstration diese Tatsache doch, weshalb es ratsam bleibt, Gebrauchsmünzen, so wie sie sind, zu diesen Versuchen zu benutzen.

Es gelingt also, durch geeignete Verquickung der Beijerinck'schen Methode der Auxanogramme mit den Erfahrungen Nägeli's über Oligodynamie bei höheren Grünalgen die Empfindlichkeit auch von Diatomeen für oligodynamische Wirkung sicher nachzuweisen und für Demonstrationszwecke auszuwerten.

XII. Ausscheidungen der Diatomeen.

Verschiedene Beobachtungen — das Auskommen der Diatomeen mit der in den Kulturgefäßwänden vorhandenen Kieselsäure, die Verflüssigung der Gelatine, die Lösung des Agars — berechtigten zur Auffassung, daß die Diatomeen die Fähigkeit zu gewissen Ausscheidungen besitzen, die als Säure- oder Alkaliausscheidung die Verwertung des Glases, als Fermentwirkung die Korrosion der Gelatine und des Agars verständlich machen würden. Bereits in der letzten Arbeit habe ich auf die Ausscheidung eines gelatine- und eines agarlösenden Fermentes bei Diatomeen aufmerksam gemacht.

Nun sollte die Frage noch dahin ausgeweitet werden, ob es noch andere Fermente bei Diatomeen gibt und ob man nach den üblichen bakteriologischen Methoden eine Säure- oder Alkaliausscheidung oder aber eine Fermentabsonderung direkt zu demonstrieren vermag, endlich ob es gelänge, unter bestimmten Verhältnissen Gasabsonderungen in nennenswerten Quantitäten hervorzurufen.

1. Versuche über Säureabsonderung bei Diatomeen.

a) Die ersten Experimente wurden mit Lackmusgelatine angestellt, mit negativem Ergebnis; ebenso kam ich mit der von Petruschky[1] für Bakterien empfohlenen und allgemein gerühmten Lackmusmolke vielleicht wegen ihrer neutralen Reaktion zu keinem Resultat. Die große Schwierigkeit liegt bei derartigen Versuchen eben darin, daß die wenn vorhandenen, doch gewiß ziemlich schwachen Säuren das zum Gedeihen zweckmäßige Alkali erst neutralisieren müssen, ehe sie auf den Farbstoff einwirken können, und daß sie, wenn man sie, wie hier notwendig, gleich auf neutralen ziehen will, nicht wachsen wollen. Auch dürften die vielleicht entstehenden Farbennuancen so wenig verschieden sein, daß sie von unserem Auge nicht erfaßt werden können. Ich habe vor, es mit kräftigen Kolonien und der von Emich[2] angegebenen Lackmusseide zu versuchen, vielleicht daß diese hier Klarheit verschaffen wird. Vorläufig also fielen alle Versuche mit Lackmus negativ aus.

b) Experimente mit $CaCO_3$. Der viel gerühmten Experimentierkunst Beijerinck's[3] verdanken wir auch hier wieder ein sinnreiches Mittel, sich von der Säureausscheidung von Mikroorganismen zu überzeugen. Stellt man sich Agar- oder Gelatineplatten dar, die eine Aufschwemmung von $CaCO_3$ enthalten oder mit einer sterilisierten Aufschwemmung dieses

---

[1] Joh. Petruschky, Bakterio-chemische Untersuchungen. Zentr. f. B. u. P., VI. Bd. (1889), p. 625.

[2] F. Emich, Mikrochemischer Nachweis von Alkalien und Säuren. Diese Sitzungsberichte, Bd. CX, Abt. IIb, Juni 1901, p. 612.

[3] M. W. Beijerinck, Verfahren zum Nachweis der Säureabsonderung bei Mikrobien. Zentr. f. B. u. P., Bd. IX (1891).

Stoffes begossen wurden, und impft darauf einen säureabsondernden Mikroorganismus, so entsteht alsbald um die werdende Bakterienkolonie oder den wachsenden Pilzrasen eine durchsichtige oder durchscheinende Zone, entsprechend der fortschreitenden Lösung des $CaCO_3$. Es erscheint dabei notwendig, ein Kohlehydrat, wie Traubenzucker, aus dem eben Säure abgespalten werden kann, in dem Nährboden zu lösen.

Meine einschlägigen Versuche mit *Nitzschia Palea*, als der raschwüchsigeren, reinkultivierten Diatomee, wurden zum Teile genau nach dem Rezept von Beijerinck ausgeführt, zum Teile so, daß von dem Traubenzuckerzusatz Abstand genommen wurde, weil ja an eine direkte Ausscheidung von Säure auch ohne Vermittlung einer organischen Substanz gedacht werden konnte. Das Ergebnis aller dieser Experimente war negativ.

c) $CaCO_3$-Erzeugung durch Diatomeen. Bekanntlich hat Hassak[1] für gewisse Grünalgen die Fähigkeit nachgewiesen, sich unter bestimmten Umständen, etwa bei greller Beleuchtung, in Ca-reichem Wasser mit einem $CaCO_3$-Mantel oder Schirme zu umgeben. Für andere Algengruppen, abgesehen von gewissen Rhodophyzeen, ist meines Wissens der Nachweis für die Fähigkeit der $CaCO_3$-Bildung noch nicht erbracht worden. Bei den beweglichen Diatomeenformen konnte erst die Kultur darüber endgültig Aufschluß geben. Nachdem ich nach meinen Erfahrungen an den Kölbchenkulturen zum ersten Male wieder Ca als Nitrat, beziehungsweise Chlorid in meinem Agar gelöst hatte, bemerkte ich in Kolonien einiger derzeit noch nicht bestimmter, kleiner Diatomeen, deren Speziesreinkultur mir vorläufig geglückt ist, Unmassen einer gekörnten Masse, die mit HCl lebhaft brauste und sonst $CaCO_3$-Körnern auffallend glich. Meine erste Vermutung war also die, daß es Diatomeenspezies gäbe, die $CaCO_3$ ausscheiden, und ich verlegte mich auf die Reinkultur dieser für mich nun interessanten Formen. Weder bei der *Nitzschia* noch bei der *Navicula* hatte

[1] C. Hassak, Über das Verhältnis von Pflanzen zu Bicarbonaten und über Kalkinkrustation. Unters. aus dem bot. Inst. zu Tübingen, II. Bd., Leipzig 1886—1888, p. 465.

ich bisher derartiges beobachtet. An die vorgenommene Veränderung in der Zusammensetzung des Nährsubstrates dachte ich zunächst nicht. Als ich die *Nitzschia Palea* nun auch auf das gleiche Substrat überimpfte, zeigte sie genau die nämliche Erscheinung. In allen Kolonien einer $Ca(NO_3)_2$ oder $CaCl_2$ enthaltenden Agarplatte kann man massenhaft, und zwar meist nur innerhalb und manchmal auch in der unmittelbaren Umgebung rings um den Rand der Kolonie herum, die bewußten $CaCO_3$-Körner wahrnehmen. Da ich über *Navicula minuscula* noch keine diesbezüglichen Erfahrungen habe, kann ich also vorläufig bloß für die oben erwähnten unbestimmten und die in absoluter Reinkultur befindliche *Nitzschia Palea* die Tatsache konstatieren, daß diese Diatomeen auf Ca-haltigem anorganischen Agar $CaCO_3$ zu erzeugen vermögen. Besonders schön habe ich diese Erscheinung bei einer der später zu beschreibenden Lichtschriftkulturen gesehen, wo die von Diatomeen gebildeten Buchstaben von $CaCO_3$-Massen wie umsäumt waren.

Der Schluß, zu den uns diese Beobachtungen in Bezug auf Säureabsonderung berechtigen, lautet also: Die Diatomeen scheiden CO_2 aus, deren Nachweis durch Bildung von $CaCO_3$ auf Ca-reichem Nährsubstrat gelingt. Dadurch wird es auch verständlich, warum weder mit der Beijerinck'schen[1] $CaCO_3$-Methode noch in Anbetracht ihrer geringen Azidität und Beständigkeit mit Lackmus[2] ein sicheres Resultat erzielt werden konnte.

Gegen diese Schlußfolgerungen wäre noch ein Einwand gestattet, auch mit Berufung auf eine schon mitgeteilte Stelle aus Miquel's[3] Arbeiten, der nämlich, daß die Zersetzung der Alkalisilikate ganz spontan unter Einfluß des CO_2 der atmosphärischen Luft und ohne Zutun der Diatomeen erfolge. Miquel hat geradezu $CaCO_3$-Bildung in seinen Kulturen gesehen.

Miquel hatte, wie bekannt, flüssige Kulturmedien. In dem Falle war die Entscheidung schwer, ob für die auftretenden

---

1 W. M. Beijerinck, l. c.

2 Joh. Petruschky, l. c.

3 P. Miquel, II., l. c., p. 119; vergl. VII, p. 77.

$CaCO_3$-Massen die Diatomeen oder die CO_2 der Luft verantwortlich gemacht werden sollte. Mir aber standen feste Nährböden zur Verfügung und die $CaCO_3$-Massen waren nur in und um die Kolonien zu treffen und waren nicht über die ganze Agarplatte verteilt, wie bei der gleichmäßigen Wirkung der Luftkohlensäure hätte erwartet werden müssen. Ich halte also meine Behauptung von früher aufrecht und wiederhole:

Die Diatomee *Nitzschia Palea* und andere Diatomeen geben auf silicium- und calciumhaltigem Agar zu $CaCO_3$-Bildung Anlaß, wodurch die Ausscheidung von CO_2 erwiesen werden kann.

2. Versuche über die Abscheidung von Alkali.

Auch bei diesen Experimenten sind die Schwierigkeiten ungemein groß, auch hier ist mit Lackmus[1] zu keinem Resultat zu kommen und die schwache Alkaleszenz des Nährbodens beeinträchtigt auch stark die Phenolphthaleïnprobe. Dazu kommt, daß der braune Farbenton der Diatomeen hinter dem Weiß des gefällten Phenolphtaleïns einen rötlichen Stich erhielt. Wenn ich alle in dieser Richtung gemachten Versuche überblicke, so war doch kein einziger so eindeutig, daß er alle erwähnten Einwände entkräftet hätte; ich lasse also die Frage vorläufig noch unbeantwortet, ob die Diatomeen Alkali ausscheiden oder nicht, und hoffe, nach Anwendung von Emich's[2] Methode später sicherere Auskunft geben zu können.

3. Versuche über die Ausscheidung von Fermenten.

a) Ausscheidung eines proteolytischen Enzyms. Wie schon mitgeteilt, sind die von mir reinkultivierten Diatomeen *Nitzschia Palea* und *Navicula minuscula* im stande, Gelatine zu verflüssigen (vergl. Photographie Nr. 7 und 8), was nach den landläufigen bakteriologischen Auffassungen[3] das Vorhandensein eines proteolytischen Enzyms beweist. Immerhin

---

[1] Joh. Petruschky, l. c.

[2] F. Emich, l. c.

[3] K. B. Lehmann und R. O. Neumann, Atlas und Grundriß der Bakteriologie. München 1904, II. Teil, p. 52.

wollte ich noch nach einer zweiten Methode den Beweis erbringen. Bekanntlich haben Eijkmann[1] und Hastings[2] Milchagar zum Nachweis proteolytischer Enzyme in Anbetracht der Verflüssigung von Gelatine bei höheren Temperaturen empfohlen.

Nach Hastings sterilisiert man in Eprouvetten getrennt das Nähragar und die Milch, und zwar werden die Quantitäten so bemessen, daß nach dem Abkühlen auf etwa 40° zu 9 cm^3 Agar 1 cm^3 abgerahmte Milch in die sterilisierten Petrischalen gegossen werden kann, daß also ein Agar mit rund 10% Milch resultiert. Impft man ein solches Agar mit dem Heubazillus, *Bact. prodigiosum*, mit *Penicillium* u. dgl., so erhält man um die Kolonien, beziehungsweise Rasen durchscheinende Flecke, während das übrige Agar weiß bleibt. Sehr schöne Bilder liefern auch Impfstriche.

Beide Forscher deuten nun diese Erscheinung dahin, daß damit wegen der Lösung des Kaseïns ein Beleg für das Vorhandensein eines proteolytischen Enzyms gegeben sei.

Ich habe mir nach Hastings' Rezept ein solches Milchagar hergestellt mit der Modifikation, daß ich als Agar das gewöhnliche anorganische Agar benutzte. Der Versuch fiel negativ aus. Die große Schwierigkeit für die Beurteilung liegt hier wiederum darin, daß das Braun der Diatomeen mit dem Weiß der Milch so eigentümlich sich vermengt, daß der Eindruck einer Aufhellung des Nährsubstrates hervorgebracht wird. Da bei Verwendung des zehnprozentigen Milchzusatzes der Einwand gestattet war, daß wegen der großen Menge Milch die Wirkung verdeckt würde, wurde durch neue Versuche diesem Umstande durch Verwendung geringerer Konzentrationen und dünnerer Agarplatten Rechnung getragen. Es stellte sich dabei wohl heraus, daß die Milch ungünstig auf die Diatomeen einwirkt, daß nämlich Förderung der Diatomeenentwicklung und Milchzusatz im umgekehrten Verhältnis zueinander stehen, doch konnte nur in einem einzigen Falle das gewünschte Aufhellungsphänomen konstatiert werden.

Zuchtversuche von Nitzschien auf Hühnereiweiß, auf der Innenseite von Eierschalen, auf gefälltem Hühnereiweiß und

---

[1] Eijkmann, Z. f. B. u. P., XXIX, p. 845.

[2] E. G. Hastings, Milchagar als Medium zur Demonstration der Erzeugung proteolytischer Enzyme. Ref. Z. f. B. u. P., 1903, II. Abt., p. 384.

auf Albumin purissimum von Merck dagegen fielen alle positiv aus, doch konnte ich von einer Verflüssigung nichts bemerken.

Aus diesen Versuchen geht sonach trotz der mißglückten Milchagarexperimente zweifellos hervor, daß die Diatomeen ein proteolytisches, d. h. eiweißverdauendes Ferment besitzen. Wie bereits erwähnt, wird dessen gelatineverflüssigende Wirkung durch höhere Alkohole gesteigert[1] (vergl. Photographie Fig. 4, II bis IV).

b) Ausscheidung eines agarlösenden Fermentes. Alle Experimente mit *Nitzschia Palea*, *Navicula minuscula* und den bisher speziesrein erhaltenen anderen Diatomeen, auch denen des Meerwassers, bestätigten meine ersten[2] Mitteilungen von einem agarlösendem Fermente bei Diatomeen.

c) Versuche über die Ausscheidung eines diastatischen Fermentes. Bekanntlich[3] wird das Vorhandensein eines diastatisch wirkenden Fermentes durch das Nichteintreten der Blaufärbung rings um die ein solches Ferment in einem Kleisteragar oder in einer Kleistergelatine ausscheidenden Bakterienkolonie (Pilzrasen) angezeigt. Dabei ist aber jedenfalls die Gelatine für die Sichtbarmachung der Reaktion minder günstig. Alle meine Versuche mit Diatomeen bei Anwendung von gewöhnlichem Stärkekleister und der sogenannten löslichen Stärke[4] fielen negativ aus.

d) Versuche über Ausscheidung anderer Stoffe. Ebenso hatten jene Versuche, bei denen ich dem Jodstärkekleisterpapier analog JK und Stärkekleister verwertete, wohl das interessante Ergebnis, daß die Nitzschien noch in einem Agar mit $^1/_4\,^0/_0$ JK zu starker Entwicklung zu kommen vermögen, in der Frage, ob eventuell Ozon oder sonst ein Stoff, der Jod hätte frei machen können, ausgeschieden wird, wobei lokalisierte Bläuung hätte entstehen müssen, lehrten sie nichts. In Anbetracht der starken Giftwirkung naszierenden Jodes war

---

[1] Vergl. V., p. 69 und 70, und Lehmann-Neumann, l. c., II. Teil, p. 54.

[2] Oswald Richter, l. c., p. 502.

[3] Eijkmann, l. c., p. 846.

[4] M. W. Beijerinck, Über die Eigentümlichkeit der löslichen Stärke. Z. f. B. u. P., II. Abt., 1896, p. 697.

übrigens von vornherein nicht viel in dieser Richtung zu erwarten.

e) Versuche über die Entwicklung von Gasen.[1] Es ist eine bekannte Tatsache, daß Diatomeenmassen in Kölbchenkulturen im Zimmer gehalten, bei intensiver Beleuchtung sich ganz mit kleinen Gasbläschen bedecken, die man gewiß mit Recht für durch die Assimilation erzeugte O-Blasen hält. Miquel[2] gelang es, bei seinen Kulturen 200 bis 300 *cm*^{3} O in 14 Tagen,[3] in einem Falle[4] in einer *Nitzschia*-Kultur sogar 1 *l* O in 5 bis 6 Tagen aufzufangen. Es war mir nun auffallend, daß ich nie oder wenn, so nur ganz zweifelhafte Gasblasenbildung bei meinen Diatomeenkulturen beobachten konnte.[5] Erst die Verwendung von Eprouvetten- oder Kölbchenschüttelkulturen ermöglicht, bei günstiger Beleuchtung die gleiche Erscheinung zu sehen.

Ich verfahre dabei so, daß ich die sterilisierte noch nicht erstarrte Gelatine — mutatis mutandis gilt dies für das Agar auch — mit Diatomeenimpfmasse für Dichtsaat versehe, fest schüttle, erkalten und erstarren lasse. Schon nach 5 bis 7 Tagen bemerkt man dann in der ganzen Kulturmasse die ersten Kolonien, die oben gewöhnlich eine dichtere Zone bilden. Nach 12 Tagen sind sie schon so massenhaft, daß die Farbe der Gelatine durch das Braun des Phäophylls völlig gedeckt ist. Das ist der Moment, wo die Gasentwicklung anhebt, Gasblasen der verschiedensten Größe werden sichtbar und steigen, an Volumen zunehmend, in der Gelatine auf. Dieses Phänomen verschwindet mit der Verflüssigung der Gelatine.

---

[1] P. Miquel, II, l. c., p. 98, bemerkte, daß im Sonnenlichte getötete Diatomeen einen aromatischen Geruch nach Cumin, dem Wanzengeruche ähnlich entwickeln. »Le liquide dégage une odeur aromatique de cumin, fort voisine de celle de la punaise«. Ich habe davon nie etwas bemerkt.

[2] P. Miquel, II., l. c., p. 98.

[3] P. Miquel's Brief, l. c., p. 119.

[4] P. Miquel, II., l. c., p. 170.

[5] Der Grund konnte in der Möglichkeit eines Gasabzuges in den Stich-, beziehungsweise Gasaustausches in den Strichkulturen und den relativ geringen Mengen Gas als Assimilationsprodukt der Kolonien in den Platten gegeben sein oder im Anschluß an Fr. Oltmanns, II. Bd., p. 142, darin, daß nur soviel O ausgeschieden wurde, als in der Gelatine löslich war.

Welches Gas ausgeschieden wird. wage ich nicht mit Bestimmtheit zu sagen, da eine Aufsammlung in Gährungskölbchen vorläufig nicht durchgeführt wurde, also eine chemische Analyse unterblieb, doch dürfte die Annahme von O der Wahrheit am nächsten kommen.

Fassen wir die Ergebnisse des Kapitels über Ausscheidungen von Diatomeen zusammen, so zeigt sich bei diesen:

1. Absonderung von Kohlensäure, die zur Bildung von $CaCO_3$ führt;

2. Abscheidung eines gelatineverflüssigenden, beziehungsweise eiweißverdauenden Fermentes;

3. wurde bei ihnen ein agarlösendes Ferment und

4. in Gelatine- und Agarkulturen bei geeigneter Versuchsanstellung Gasausscheidung zweifellos festgestellt, wobei das entwickelte Gas mit Rücksicht auf Beijerinck's[1] Versuche und die Biologie der Diatomeen als Sauerstoff angesprochen werden darf.

XIII. Der Einfluß des Lichtes auf die Diatomeen, im besonderen auf Nitzschia Palea und Navicula minuscula.

1. Gedeihen die genannten Diatomeen auch im Dunkeln?

Der Fortschritt in der Kultur der Algen bringt es mit sich, daß die Frage nach der Bedeutung von Licht und Dunkel für diese Kulturpflanzen immer wieder eine eingehende Erörterung erfährt und sich so ein überraschendes Ergebnis an das andere reiht;[2] man denke bloß an die schönen Resultate, die Artari[3] mit seinen Grünalgen erzielte.

---

[1] Beijerinck, I., p. 744 (1890).

[2] Vergl. Fr. Oltmanns, l. c., 2. Bd., p. 158 u. f.

[3] A. Artari, l. c., p. 203.

Auch bei der Zucht der Diatomeen hat man seit jeher auf diese Frage Rücksicht genommen. So fand Miquel,[1] daß sich die Diatomeen unter den von ihm geschaffenen Kulturbedingungen, also bei organischer und anorganischer Ernährung,[2] weder in der Dunkelheit noch im Halbschatten entwickelten.[1] Wenn die Lichtintensität nicht ausreiche, könne man diese Algen nicht kultivieren, doch erhielten sie durch Monate die Fähigkeit, sich, nach der Verdunkelung ans Licht gebracht, zu vermehren.

Ebensowenig konnte Benecke[3] eine Vermehrung der braunen Diatomeen im Dunkeln — sei es in Massen-, sei es in Tropfenkulturen — auch bei reichlicher organischer Ernährung beobachten, während die von ihm studierten farblosen Diatomeen gerade im Dunkeln prachtvoll gediehen (vergl. dazu p. 57).

Anders dagegen äußert sich Karsten.[4] Wie schon früher[5] erwähnt wurde, benützte er Nährlösungen oder Leitungswasser mit Glykokoll, beziehungsweise Asparagin und Traubenzuckerzusatz, um also auch bei reichlicher organischer Ernährung mit Zählkulturen[6] der Frage nach der Vermehrung von Nitzschien und Naviculen im Lichte und im Dunkeln beizukommen. Dabei erscheint es von Interesse, daß er wie ich mit *Nitzschia Palea* gearbeitet hat. Leider stand mir sein zweites Versuchsobjekt, die *Navicula perpusilla*, nicht zur Verfügung.

Karsten's Antwort in unserer Frage lautet:[4] Es gibt eine Vermehrung gewisser brauner Diatomeen auch im Dunkeln, wobei man bei den verschiedenen Spezies bedeutende Unterschiede in der Vermehrungsgeschwindigkeit beobachten kann. Gewissen anderen braunen Diatomeen, wie *Nitzschia dubia*, geht die Fähigkeit, sich im Dunkeln zu vermehren, vollständig ab.

Meine Versuche in dieser Richtung sind natürlich mit *Nitzschia Palea* und *Navicula minuscula* gemacht, wobei sich

---

[1] P. Miquel, II., l. c., p. 97.
[2] P. Miquel, II., l. c., p. 93.
[3] W. Benecke, l. c., p. 562 und 563.
[4] G. Karsten, l. c., p. 413.
[5] Vergl. IV und V.
[6] G. Karsten, l. c., p. 411.

die ersten Experimente auf Gelatinekulturen mit diesen Algen beziehen.

Am 2. November 1903 wurden zwei Stich- und zwei Strichkulturen von *Nitzschia Palea* auf der gewöhnlich verwendeten Gelatine in ein Glasgefäß mit Watte gestellt, das mit schwarzem Papier umhüllt und überdies unter Dunkelsturz gestellt wurde. Während nun Kontrollversuche am Lichte schon nach 14 Tagen prachtvoll entwickelte Striche und Stiche zeigten, erschien eine Vermehrung im Dunkeln bloß wahrscheinlich.

Am 27. April 1904 waren die Dunkeldiatomeen auch noch lebend und, am selben Tag ans Licht gebracht und ans Fenster gehängt, zeigten sie am 26. Mai schon eine herrliche Entwicklung, die am 21. Juni ihren Höhepunkt erreichte.

Am 20. April 1904 wurde ein Versuch begonnen, bei dem partienweise zur verwendeten Stammgelatine 0·1% und 0·5% Inulin und 1%, 5% und 10% Rohrzucker zugesetzt wurde. Zur Kontrolle diente Gelatine ohne Zusatz. Von jeder Gelatinequantität wurden je acht Strichkulturen hergestellt, von denen je vier ans Licht, je vier in schwarze Schächtelchen in eine Schublade kamen, die, mit schwarzem Papier ausgekleidet und bedeckt, wieder in den Tisch hineingeschoben wurde. Die Schublade wurde verschlossen und der Schlüssel sicher verwahrt.

Am 27. April hatte man den Eindruck, als ob sich die *Nitzschia Palea* mit Ausnahme von 5 bis 10% Rohrzucker überall, manchmal sogar reichlich vermehrt hätte, während man derartiges bei der *Navicula minuscula* nur bei Inulin behaupten konnte.

Am 26. Mai keine merkliche Änderung. Nun wurde je eine Eprouvette jeder Sorte ans Fenster gehängt, die alsbald lebhafte Entwicklung zeigten.

Am 22. Juni wurde der Versuch beendet. Das Bild vom 27. April war noch immer erhalten. Die Diatomeen waren prächtig braun, lebensfrisch und vermehrten sich, ins Licht gebracht, alsbald sehr rasch.

Beide mitgeteilten Versuche zeigen also, daß ein bedeutendes Wachstum der beiden rein gezüchteten Diatomeen unter den obwaltenden Verhältnissen nicht stattfindet, daß aber beide eine monatelange Verdunklung vertragen, ohne Schaden zu leiden. Auch machen es diese Experimente sehr wahrscheinlich, daß eine anfängliche minimale Vermehrung, etwa während der ersten 8 bis 14 Tage, auch im Dunkeln vor sich gehen mag.

Wie man sich diese Erscheinung erklären soll, wage ich derzeit noch nicht zu entscheiden, doch dürfte der Gedanke an eine physiologische Nachwirkung des Lichtes, etwa vergleich-

bar der photomechanischen Induktion,[1] z. B. eine Zellteilungsinduktion auf eine Anzahl Generationen hinaus, nicht völlig von der Hand zu weisen sein.

Vergleichen wir nun die Ergebnisse Miquel's, Benecke's und Karsten's mit diesen neuen Erfahrungen, so leuchtet zunächst ein, daß Miquel und Benecke in Anbetracht der verwendeten Massenkulturen und mit Rücksicht auf ihre Versuchsanstellung bei den Massenkulturen nur sagen konnten, ob nach monatelangem Stehen eine merkliche Veränderung im Aussehen der Kulturen und in der Zahl der eventuell durch Pipettenzug gefischten Diatomeenmengen zu bemerken waren oder nicht. Daß jene geringe Vermehrung am Beginne des Versuches übersehen, beziehungsweise wenn beobachtet, zu den bei solchen Experimenten unvermeidlichen Versuchsfehlern gerechnet werden mußte, versteht sich eigentlich von selbst.

Makroskopisch war jedenfalls der Eindruck, was die braunen Diatomeen anlangt, der gleiche vor und nach monatelanger Verdunkelung. Daß auch Benecke's Tröpfchenkulturen[2] nichts anderes lehrten, wurde bereits erwähnt.

Anders bei Karsten, der sich auch der Zählmethode[3] bediente. Es sei mir nun gestattet, einige Ergebnisse aus seinen Tabellen[4] herauszugreifen.

Tab. I. a^3 (eine Dunkelkultur)[5] enthält bei der Impfung am 29. Jänner 16, am 30. Jänner 18, am 31. Jänner 21 Nitzschien; am 1. Februar hat

---

[1] J. Wiesner, Die heliotropischen Erscheinungen im Pflanzenreiche. Eine physiologische Monographie, I. Teil, 1878. Sep. aus dem 39. Bande der Denkschriften der kais. Akad. der Wissensch. zu Wien, Mathem.-naturw. Kl., p. 61, 69.

[2] W. Benecke, l. c., p. 563.

[3] G. Karsten, l. c., p. 411. Die Zählmethode besitzt, meine ich, doch einen Übelstand bei Untersuchungen von Dunkelkulturen, weil man bei der täglich oder fast täglich stattfindenden Zählung nicht umhin kann, die Objekte, wenn auch nur kurze Zeit hindurch, zu beleuchten, und so immer von neuem die Bedingungen zu einer photomechanischen Zellteilungsinduktion schafft.

[4] G. Karsten, l. c., p. 416, 417, 428.

[5] G. Karsten, l. c., p. 415. Als *a* bezeichnet Karsten eine Nährlösung von der Zusammensetzung: 1 *g* Glykokoll, 1 *g* Traubenzucker, 100 *g* Leitungswasser; — als *b*: eine mit 1 *g* Asparagin, 1 *g* Traubenzucker, 100 *g* Leitungswasser und als *ab*: eine mit 1 *g* Glykokoll, 1 *g* Asparagin, 1 *g* Traubenzucker, 100 *g* Leitungswasser.

keine Vermehrung mehr stattgefunden. In dieser Zeit haben sich die Lichtkulturen von 4 auf 8, also das Doppelte vermehrt.

Tab. II. Nr. 4 (eine Dunkelkultur). Impfmasse 8 Nitzschien; am 26. Jänner noch immer 8 Nitzschien; am 27. Jänner ist eine, am 30. Jänner eine zweite dazugekommen. Von da ab bleibt die Zahl 10 konstant.
Nr. 5 (eine Dunkelkultur): Am 21. Jänner 11, am 22. Jänner 13, am 23. Jänner 14 Nitzschien und von da ab keine Änderung mehr bis zum 2. Februar. Die Lichtkulturen waren inzwischen in 3 Tagen schon verdreifacht.

Damit stimmen auch die von Karsten berechneten Vermehrungsfüße[1] von 1·197 für a^2, 1·095 für a^3 der Dunkel-, gegen 1·26 der Lichtkulturen in diesem Versuche.

Ganz ähnlich stellt sich das Verhältnis bei der Glyzerinernährung 1·018 und 1·02 gegen 1·225 und 1·257 im Lichte.

Betont muß werden, daß sich diese angeführten Berechnungen auf 3-, 4-, im Maximum auf 13 tägige Kulturen beziehen.

Bei *Nitzschia Palea* findet also in den bisher herangezogenen Kulturen Karsten's eine Vermehrung im Dunkeln statt, aber eine sehr geringe, die rund auf die ersten 14 Tage beschränkt bleibt.

Das ist aber dasselbe Ergebnis wie bei meinen nicht nach Zählversuchen gemachten Beobachtungen. In der Folge bleibt die Vermehrung aus, selbst wenn man den Versuch monatelang stehen läßt: — der zahlenmäßig von Karsten erbrachte Beweis von der »photomechanischen Induktion der Zellteilung«.

Daß Karsten selbst die *Nitzschia* wegen ihres Verhaltens nicht zu den besten Experimentalobjekten nach der von ihm verfolgten Richtung zählt, beweist die folgende Bemerkung:[2]

»Vergleichen wir jetzt einmal die beiden Versuchsobjekte *Nitzschia Palea* und *Navicula perpusilla*, so zeigt sich, daß die auf gut Glück herausgegriffene *Nitzschia* nicht gerade die günstigste Form für unsere Zwecke ist,... denn während *Nitzschia Palea* auch bei bester Ernährung nur einen Bruchteil der bei Licht stattfindenden Vermehrung zu leisten vermag, sind diese Unterschiede bei *Navicula perpusilla* vollkommen verschwunden.«

Ein solcher Fall bester Ernährung, auf den angespielt wird, scheint die Kombination Glykokoll, Asparagin, Traubenzucker und Leitungswasser zu sein, denn hier stellt sich der

---

[1] G. Karsten, l. c., p. 430, 431.

[2] G. Karsten, l. c., p. 419.

Vermehrungsfuß dar als 1·225 für Dunkelkulturen gegen 1·58 und 1·29[1] für die im Lichte. Immerhin kann auch in diesem meiner Auslegung am ehesten widersprechenden Falle betont werden, daß sich auch hier die Vermehrung in den ersten vier Tagen abgespielt hat. Es ist zu bedauern, daß dieser so wichtige Versuch bereits nach vier Tagen abgebrochen wurde.

Darnach lassen sich alle Erfahrungen Karsten's an *Nitzschia Palea* mit meinen und im weiteren Sinne mit Benecke's und Miquel's Erfahrungen in Einklang bringen. Karsten hat eben die durch Lichtwirkung bedingte Zellvermehrung zahlengemäß festgestellt und den Massenkulturen und ihrer Allgemeinentwicklung das geringere Interesse geschenkt, den beiden anderen Forschern mußte aber, weil sie sich zumeist an das Aussehen dieser hielten, die geringe Vermehrung der Diatomeen im Dunkeln entgehen.

Was ich hier ausgeführt habe, gilt — ich hebe das nochmals hervor — nur für die *Nitzschia Palea.* Ergänzend mag darauf hingewiesen sein, daß meine Erfahrungen mit *Navicula minuscula* mit den eben mitgeteilten völlig übereinstimmen. Ob und wenn, inwieweit die Karsten'schen[2] Erfahrungen mit *Navicula perpusilla* und der *Nitzschia Closterium*[3] sich auch mit meinen in Einklang bringen ließen, wage ich nicht, auch nur anzudeuten, da ich diese Algen nicht in Kultur habe, doch müßte jedenfalls auch da erst ein lang andauernder Versuch gemacht werden zur Entscheidung, ob jene Verdoppelung, Verdrei-, ja Versechsfachung der Individuenzahl im Dunkeln innerhalb 7 bis 8 Tagen das Resultat einer Nachwirkung des Lichtes oder ein Ergebnis vollkommener Anpassung an die saprophytische Lebensweise darstellt.

Weit entfernt, die Möglichkeit einer solchen Anpassung zu leugnen, erkläre ich sie nur für *Nitzschia Palea,* Karsten's und mein Experimentalobjekt, derzeit noch nicht für erwiesen. Karsten hat, wie aus meinen Alkohol-, Kohlehydrat- und Stickstoffversuchen zu ersehen ist, mit ungemein glücklichem Griffe gerade jene Substanzen kombiniert, die sich jede allein

[1] G. Karsten, l. c., p. 430.

[2] G. Karsten, l. c., p. 417 und 430.

[3] G. Karsten, l. c., p. 428 und 431.

schon als sehr fördernd für die Diatomeenkultur herausgestellt haben, wie Glyzerin, Asparagin und Traubenzucker. Über die Bedeutung des Glykokolls habe ich selbst keine Erfahrungen.

Als wichtig für die Dunkelzucht kann sich vielleicht gerade die Unreinheit der Kulturen ergeben. Es ist gar nicht so unwahrscheinlich, daß durch die Bakterientätigkeit Abspaltungsprodukte der organischen Nährsubstanzen erzeugt werden, die erst das »Dunkelwachstum« ermöglichen. Vielleicht wird es auch einmal gelingen, jene zweckmäßige Vereinigung von Stickstoff- und Kohlenstoffquelle zu finden, die mit der Sicherheit eines Experimentes das Wachstum der Diatomeen, speziell der *Nitzschia Palea* und *Navicula minuscula* auch im Dunkeln gestatten wird, so daß wir deren Kolonien, Striche und Stiche, sei es in brauner, sei es in weißer Farbe, auf mit jenen Substanzen versehenem Agar, beziehungsweise einer mit ihnen beschickten Gelatine wahrnehmen werden. Heute ist davon noch keine Rede. Heute können wir bloß sagen, daß auch nach monatelangem Aufenthalte meiner rein kultivierten Diatomeen im Dunkeln auch bei reichlicher Zufuhr organischer Nährstoffe eine nennenswerte Vermehrung derselben nicht stattfindet, wohl aber eine ganz geringe in der ersten Zeit der Verdunkelung und daß das Verdunkeln ihrer Lebensfähigkeit keinen Eintrag tut.

Zum Schlusse dieser Ausführungen über die Bedeutung von Licht- und Dunkel für Diatomeen möchte ich auf die Photographie Nr. 3 verweisen. Sie ist dargestellt nach einem Dauerpräparat, das ich mir von einem meiner späteren Lichtversuche hergestellt habe. Er war in der Weise gemacht worden, daß eine Agarplatte mit Dichtsaat von *Nitzschia Palea* versehen, mit Schablone bedeckt, im übrigen verdunkelt, von den Lichtstrahlen nur durch die Buchstabenstanzen getroffen werden konnte, wie solche Versuche bei der Beurteilung der Lichtempfindlichkeit von Bakterien[1] sich schon lange eingebürgert haben. Nach erlangtem Resultate wurde die Platte, immer noch gleich ausgestattet, eintrocknen gelassen, wobei die Diatomeen

[1] Fr. Lafar, l. c., 1897, p. 74.

abstarben, so daß nur mehr die weißen Panzer zu sehen waren; diese sind photographiert und geben so auch auf schwarzem Untergrund eine sehr klare Vorstellung von dem Versuchsresultate.

In der Folge habe ich mir eine größere Zahl Zinkblechbüchsen machen lassen, die, aus zwei Teilen bestehend, gerade so groß waren, daß die Petrischalen darin untergebracht werden konnten. Zu Demonstrationsversuchen sind übrigens Büchsen, die, sonst gleich ausgestattet, Kristallisierschalen aufnehmen können, sehr geeignet.

Jede dieser Doppelbüchsen hat in dem Bodenteil eine rechteckige Öffnung, die beim Versuche unmittelbar an den Glasdosenboden anliegt und die umrahmt ist von Führungen aus Metall, so daß man beliebige Blechschablonen einführen kann. Wesentlich zur Erlangung sehr scharfer Buchstabenränder ist der enge Anschluß der Schablone an das Glas. Diese Büchsen lassen sich auch zum Studium der Farbenwirkung verschiedener, auf bestimmte Spektralfarben geprüfter Gläser ausgezeichnet verwenden.

Wesentlich für das Gelingen aller dieser Experimente ist die Verwendung von Dichtsaaten. Ich verfuhr später gewöhnlich so, daß ich eine Gelatine-Eprouvettenkultur mäßig erwärmte, bis die Gelatine zerfloß, und davon einen Teil nach Zerschütteln in das noch flüssige, erkaltende Agar der Petrischale goß und verteilte. Besonders bei den großen Kristallisierschalen ist dieses Verfahren anzuraten.

Endlich vermeide man bei der Exposition eine vertikale Aufstellung oder Aufhängung der Büchsen mit den Versuchen. Es kommt nämlich trotz aller Vorsicht vor, daß das Kondensationswasser das Agar bei vertikaler Lage großer Scheiben allmählich rutschen läßt, so daß man beim Nachsehen das ganze Agar zusammengefaltet an der untersten Stelle der Schale findet. Bei einem Neigungswinkel von 30 bis 45° ist eine solche Überraschung sozusagen ausgeschlossen.

Was für das Agar gesagt wurde, gilt mit den entsprechenden Änderungen auch für die Gelatine. Sehr gut ist auch eine Mischung beider in gleichem Verhältnisse, umsomehr als sich bei der Gelatine an heißen Sommertagen die Gefahr des Zer-

fließens einstellt und außerdem die früher schon erwähnten Gasblasen[1] (»O«-Blasen) wiederholt Anlaß zum Zerreißen der besten Platten geben.

Meine zahlreichen Versuche nach dieser Richtung stimmten alle darin überein, daß sowohl die *Nitzschia Palea* wie die *Navicula minuscula* sowohl auf Agar wie auf Gelatine sich nur vermehrten in jenen Räumen der Platte, wohin das Licht gelangen konnte, also unter den Buchstaben. Dagegen vermehrten sich unter allen dunklen Teilen der Büchse die Diatomeen nicht, blieben aber lebend.

Infolgedessen verwischt sich die scharfe Schrift sofort, wenn die Petrischale, aus der Büchse genommen, dem Licht exponiert wird. Es tritt eben Teilung und Koloniebildung auch auf den anscheinend diatomeenfreien Plätzen ein, außerdem wachsen die »Buchstabenkolonien« über ihre Grenzen und bald ist von der Schrift nichts mehr zu sehen als eine zarte Andeutung.

Interessant ist auch die nach zwei- bis dreiwöchentlicher Kultur in Agar bei starker diffuser Beleuchtung zu beobachtende Umrahmung der Buchstaben mit tiefbraunen Diatomeen knapp unter den Stanzenrändern, während die Buchstaben weiter innen verblassen.[2]

Erklären könnte man sich diese Erscheinung entweder dadurch, daß man die Annahme vom Nährsalzverbrauch im Innern der Buchstaben und der relativen Konkurrenzlosigkeit der Diatomeen am Buchstabenrande zu Hilfe nimmt, oder dadurch, daß man sagt, die durch Beugung am Schablonenrand erzeugte Lichtintensität sage bei starker diffuser Beleuchtung den Diatomeen am besten zu, was mir Gelegenheit gibt, nochmals[3] auf die Frage nach der günstigsten Lichtintensität für Diatomeen einzugehen.

---

[1] XII., 3., *e)*, p. 93.

[2] Von der Umrahmung mit $CaCO_3$ auf Ca- und Si-haltigem Nährsubstrate wurde bereits gesprochen. Vergl. XII., 1 *c)*, p. 89.

[3] Vergl. Oswald Richter, l. c., p. 503.

2. Welche Lichtintensitäten erweisen sich bei der Zucht von Diatomeen am günstigsten?

Wie die Beobachtungen von Lorenz, Fuchs, Schmidle u. a.[1] gezeigt haben, kommen Diatomeen aus der Gruppe der *Navicula*-Arten noch bei 100 *m* Tiefe im Quarnero vor. In solchen Tiefen sind aber die Lichtmengen schon kaum mehr meßbar. Andrerseits finden sich viele unserer bekanntesten Diatomeen bei starker Beleuchtung erfahrungsgemäß sehr wohl. Daraus schon leuchtet die Notwendigkeit ein, für die jeweiligen Experimentalobjekte die günstigste Lichtintensität empirisch zu ermitteln.

Miquel[2] empfiehlt für die große Menge der Diatomeen die Aufstellung im Sommer an Nordfenstern bei ausreichendem milden Lichte.[3] Dem Sonnenlichte dürfen die Kulturen unter keiner Bedingung ausgesetzt werden.

»Sous l'action des rayons du soleil..., toutes les diatomées ont peri«.[4]

Die schädigende Wirkung der Sonnenstrahlen beruhe hauptsächlich auf der starken Erwärmung des Diatomeenbodensatzes. Auch bei starker diffuser Beleuchtung sind Lichtschirme und Vorhänge von Vorteil.[5]

Im Winter[5] ist die Belassung der Kulturen an Nordfenstern unvorteilhaft.

Sehr starke Beleuchtung verträgt nach Miquel[6] »die kleine gewöhnliche Nitzschie, die sich fast an allen Orten vorfindet«, so daß man sie direkt zur Vorherrschaft bringen kann, wenn man die Kulturen »den stärksten Lichtstrahlen aussetzt«.

Auf der anderen Seite nehmen viele Nitzschien, Melosiren und Cyclotellen mit kontinuierlicher relativ schwacher Gasbeleuchtung vorlieb (Gasverbrauch 50 bis 60 *l* pro Stunde) und

---

[1] Zitiert nach Fr. Oltmanns, l. c., II. Bd., p. 193.
[2] P. Miquel, II., l. c., p. 97 und 123.
[3] P. Miquel, II., l. c., p. 153.
[4] P. Miquel, II., l. c., p. 98 und 123.
[5] P. Miquel, II., l. c. p. 123.
[6] P. Miquel, II., l. c., p. 170.

im Lichte eines Brenners von 50 bis 100 *l* Gas pro Stunde vermehren sich auf 20 *cm* Distanz die meisten Diatomeen des Süß- und Meerwassers.[1]

In Ergänzung meiner früheren Angaben[2] möchte ich auf den ersten Vorversuch in der Kieselsäurefrage verweisen. Er dauerte vom 25. Oktober 1903 bis 23. März 1904, fiel also in die ungünstigste Jahreszeit, wo die Lichtintensität ohnehin herabgemindert ist.

Daß durch die Paraffinauskleidung die Lichtintensität noch geringer werden mußte, liegt auf der Hand. Darum wurde zur Kontrolle die Kölbchenreihe mit der Paraffinumkleidung angebracht. Der Versuch stand an einem Westfenster. Während nun in allen vier Kölbchen »ohne Paraffin« am 13. November bereits reichliche Kolonien entstanden waren und am 25. November der Boden mit einer Diatomeenschichte ganz bedeckt war, begann die Entwicklung am 13. November erst in einem Kölbchen mit Paraffinumkleidung und erst am 6. Februar 1904 war bei allen Kölbchen dieser Sorte der Boden tiefbraun gefärbt von Diatomeenmassen.

Es hatte also die Halbschattenwirkung, die der Paraffinmantel in den Wintermonaten hervorbringt, in Übereinstimmung mit Erfahrungen Miquel's[3] die Diatomeen nicht zur erheblichen Vermehrung kommen lassen, doch hatten die Diatomeen die Fähigkeit, bei günstigerer Beleuchtung mit Vermehrung zu antworten, durch die lange Zeit des Versuches nicht eingebüßt. Der Versuch lehrt übrigens, wie notwendig die Kontrollversuche mit Paraffinauskleidung waren, denn bis zum 25. November sahen die Kölbchen *A* bis *D* (Paraffin innen) und *A* bis *C* (Paraffin außen) völlig gleich aus, wodurch beim Abbrechen des Versuches in diesem Momente unsichere Schlüsse bezüglich der Notwendigkeit der Kieselsäure hätten gezogen werden können.

Schon der nächste Versuch, am selben Westfenster aufgehängt, zeigt die völlige Verwischung der Unterschiede bei

---

[1] P. Miquel, II., l. c., p. 125.

[2] Oswald Richter, l. c., p. 503.

[3] P. Miquel, l. c., p. 97.

den Kölbchen mit Paraffinumkleidung und ohne Paraffin. Der Versuch währte vom 29. Februar bis 7. Mai 1904. Die Lichtintensität hat in diesen Monaten schon so zugenommen, daß der Paraffinmantel keine wesentliche Lichthemmung mehr vorstellt. Ja, die gesteigerte Lichtintensität im April und Mai läßt den Diatomeenbelag in 1) bereits verbleichen, während in 2) gerade zu dieser Zeit das üppigste Aussehen zu bemerken ist.

Der nächste Versuch, am selben Fenster gemacht, zeigt nun überhaupt nur in den mit Paraffin versehenen Kölbchen eine Entwicklung. Die Kölbchen ohne Paraffin bleiben wasserklar. Offenbar unterlagen die wenigen Diatomeen der jeweiligen Impfmassen der zerstörenden Wirkung der Lichtstrahlen und kamen auf diese Weise gar nicht zur Erzeugung einer Nachkommenschaft.

Daß bei späteren Versuchen auch in den Kölbchen mit Paraffinmantel keine Entwicklung mehr zu bemerken war, erkläre ich mir aus dem Umstande, daß ja bis zur Erkenntnis von der Notwendigkeit der Kieselsäure immer von denselben »Ca- und Si-freien« Agar- und Gelatinestammkulturen abgeimpft wurde, so daß die Diatomeen, wie ja auch Veraschungspräparate zeigten, relativ wenig Kieselsäure mitbekamen und nun mit den vielleicht gerade in schwerer löslichem Glase gehaltenen Si-Mengen nicht ihr Auslangen zu finden vermochten.

Es geht somit aus den mitgeteilten Versuchen hervor, daß die Diatomeen, im besonderen die *Nitzschia Palea*, an eine optimale Lichtintensität angepaßt sind, daß sie lange Zeit im Halbschatten auszuhalten, starkem Licht aber bloß einen geringen Widerstand zu leisten vermögen.

Bei meinen Versuchen an den Westfenstern wurde daher immer mit einem Vorhange während der Sonnenbelichtung abschattiert und bei den Nordfenstern vom Monate Mai und Juni an ein durchscheinendes weißes Papier vor den Kulturen, die am Fenster hingen, befestigt, wodurch eine Lichtintensität erzielt wurde, die in paraffinfreien Versuchsreihen, also N-, C-Versuche, eine prachtvolle Entwicklung ermöglichte. Vor Versuchen, deren Kölbchen durchwegs

Paraffinauskleidungen oder Paraffinmäntel hatten, kann jene Maßregel auch unterbleiben.

Eine wie große Rolle der Lichtintensität bei der Diatomeenentwicklung zukommt, beweist jede Plattenkultur, die man macht. Während man im Winter 14 bis 21 Tage auf makroskopisch sichtbare Kolonien warten muß, erscheinen sie bereits in vier bis fünf Tagen im Frühjahr und Sommer. Ich hebe das nochmals hervor, da man beim Lesen des Referates meiner Arbeit im Bot. Zentr.,[1] wo es heißt:

»Nach 48 Tagen wurden auf einer Agarplatte schöne Diatomeenkolonien von zweifachem Habitus beobachtet«.

den Eindruck bekommt, als ob man 48 Tage warten müßte, um eine Kolonie zu erhalten — es hätte betont werden sollen: im Winter — und man sich danach von der Verwertbarkeit der Kulturmethode eine unrichtige Vorstellung macht und an der Zweckmäßigkeit einer Ausarbeitung derselben zu zweifeln beginnt. Gerade das Gegenteil ist am Platze.

Schon Miquel[2] erwähnt, wenn es sich hier nicht bloß um die Ausbreitung der Impfmasse handelt, daß *Nitzschia Palea* nach 12 Stunden eine makroskopisch sichtbare Entwicklung zeigen kann:

»La Nitzschia palea abandonné à 32—33° sous l'action d'une lumière très vive, pullule si promptement que douze heures après son ensemencement, dans une maceration nutrificé avec de la paille, son développement est nettement visible à l'oeil nu, alors que beaucoup de cryptogames et de bactéries, ne se manifestent en aucune manière au bout d'un temps si court dans les bouillons où on les sème.«

3. Welche Lichtstrahlen sind für die Diatomeen am günstigsten?

V. Heurck,[3] der bis 1892 seit 1886 Kulturen mariner Diatomeen besaß, fand, daß die dunkelblauen Strahlen für das Leben der Diatomeen günstig waren. Miquel[4] ergänzte diese

---

[1] L. c., p. 509.

[2] P. Miquel, II., l. c., p. 170.

[3] V. Heurck, zitiert nach P. Miquel, vergl. Note 4.

[4] P. Miquel, II., l. c., p. 97.

Beobachtung dahin, daß noch ein zweites Optimum für die Diatomeenentwicklung im Gelb besteht, in den roten Strahlen sei keine Vermehrung bemerkbar.

»L'eminent diatomiste de Belgique, M. le Dr. Van Heurck, qui possède dans son laboratoire une culture spontanée de diatomées marines depuis 1886, et se continuant encore aujourd'hui, a remarqué que les rayons bleus étaient favorables à la vie des diatomées, son observation a beaucoup de justesse; en effet, deux sortes de rayons sont utiles aux diatomées: les rayons bleus et les rayons jaunes; dans les rayons rouges leur multiplication n'est pas sensible.«

Sehr vorteilhaft sei daher die Zucht in weißem Licht unter Dosen aus zimtbraunem Opalglas.[1] Jede Strahlengattung für sich allein sei natürlich weniger vorteilhaft als alle zusammen, als weißes Licht.[2] Auch verhielten sich verschiedene Diatomeen verschieden. *Pleurosigma Balticum* wachse im gelben Lichte herrlich.[3]

Ich möchte aber doch hervorheben, daß an keiner Stelle in Miquel's Arbeit von der spektroskopischen Überprüfung der verwendeten Gläser die Rede ist. Darnach sind die gewiß sehr interessanten Resultate von den beiden Maxima noch nicht völlig einwandfrei.

Meine diesbezüglichen Erfahrungen stützen sich auf Experimente mit Plattenkulturen unter Senebier'schen Glocken, auf solche mit Strichkulturen, die in mit Kaliumbichromat, beziehungsweise Kupferoxydammoniak gefüllten Eprouvetten[4]

---

[1] P. Miquel, II., l. c., p. 98.

[2] P. Miquel, II., l. c., p. 170.

[3] P. Miquel, II., l. c., p. 128.

[4] Herrn stud. phil. Josef Reinelt bin ich für die Idee und Anleitung zu dieser Versuchsanstellung sehr zu Danke verpflichtet, da sie kaum an Einfachheit übertroffen werden kann. Dicke Eprouvetten von $3^1/_2$ *cm* Durchmesser und 16 *cm* Höhe werden mit der Absorptionsflüssigkeit so weit gefüllt, daß beim Eintauchen der Kultureprouvette die Flüssigkeit bis an den oberen Rand der dicken Eprouvette heraufreicht. Ein durchbohrter Stöpsel hält die Kultureprouvette und verhindert das Abdunsten. Um Oberlicht zu vermeiden, ist über ihn und den Wattepfropf der Kultureprouvette eine Kappe aus schwarzem Papier gestülpt. Auch E. Bertarelli hat seinerzeit sehr praktische Eprouvetten für derartige Kulturen angegeben: »Pruvetten zur Anfertigung aerober und anaerobischer Kulturen unter Einwirkung kolorierter Strahlen«, Z. f. B. und P. 1903, 2. Abt., p. 739.

eingetaucht waren, und auf Versuche mit Zsigmondy'schen[1] Gläsern, welche über den erwähnten Büchsen lichtdicht angebracht waren.

Leider bin ich bis heute zu keinem abschließenden Urteile nach dieser Richtung gelangt, weil mir der Einwand der zu niedrigen Lichtintensität hinter Kupferoxydammoniak zu schwerwiegend erscheint, um meine für die Wirkung gerade der blauen Strahlen ungünstig sprechenden Experimente unter Senebier'schen Glocken und in den genannten Tuben zu denen van Heurck's und Miquel's in Gegensatz zu stellen. Vorläufig sprachen nämlich alle Experimente nur für eine fördernde Wirkung im gelben Spektralteile.

Mit Zsigmondy's Gläsern habe ich erst in einem Sommer gearbeitet, also noch viel zu wenig, um mit den betreffenden Notizen vortreten zu können, doch verspreche ich mir von ihnen noch das meiste.

Wenn wir also die bisherigen Beobachtungen über die Lichtfarben in ihrer Wirkung auf Diatomeen miteinander vergleichen, so müssen wir uns eingestehen, daß jene Strahlengattung, die auf das Diatomeenwachstum am günstigsten wirkt, bis heute noch nicht einwandfrei ermittelt ist.

4. Über Phototaxis der Diatomeen.

Von Stahl[2] rühren, wie bekannt, die ersten Beobachtungen über Phototaxis bei Diatomeen her; sein Versuchsobjekt war eine *Navicula*. Verworn[3] hat dessen Beobachtungen über positive Phototaxis bei schwacher und negative bei starker Beleuchtung bestätigt und mit seinen Versuchsobjekten, der *Navicula brevis* und einer nicht näher bestimmten *Stauroneïs*.

---

[1] R. Zsigmondy, Über Farbgläser für wissenschaftliche und technische Zwecke. Zeitschrift für Instrumentenkunde, 1901, Heft 4.

[2] E. Stahl, Über den Einfluß von Richtung und Stärke der Beleuchtung auf einige Bewegungserscheinungen im Pflanzenreiche. Bot. Zeitg., 1880, p. 38.

[3] M. Verworn, Psycho-physiologische Protistenstudien. Jena 1889, p. 46 bis 50.

Experimente über die Wirkung verschiedener Farben auf die Phototaxis angestellt; dabei erwiesen sich als allein wirksam die kurzwelligen Strahlen. Die Versuchsanstellung[1] war dabei stets die,

»...daß ein Tropfen des diatomeenhaltigen Wassers auf eine Glasplatte gebracht wurde und in die Mitte derselben ein mit Diatomeen dicht besetztes Schlammstückchen gesetzt wurde...« Auf die Glasplatte, die in ein schwarzes Kästchen gegeben wurde, fiel durch eine Öffnung Licht.

Später hat Miquel[2] bei seiner Versuchsanordnung für mikroskopische Untersuchungen an Diatomeen deren Phototaxis wieder beobachtet:

»Aussi pour la culture de certaines diatomées, surtout de celles qui viennent chercher la lumière, on expose la cellule à l'action des rayons...«

Er hat dazu eine eigene Kulturkammer konstruiert, über die im Originale nachgelesen werden muß.

Bei meinen Versuchen mit Agar und Gelatineplatten[3] konnte ich durch Zerziehen der Kolonien in der Lichtrichtung die Phototaxis für *Navicula minuscula* und *Nitzschia Palea* nachweisen. In der Folge habe ich bei einer Unzahl von Platten und Kulturen anderer Art diese Erscheinung immer wieder gesehen, so daß es ganz zweifellos ist, daß die Diatomeen im stande sind, bei geeigneter Versuchsanstellung das Licht aufzusuchen.

Es mögen nur mehr einige Rezepte angemerkt werden, die es gestatten, das Phänomen in geradezu klassischer Schönheit zu demonstrieren.

1. 200 cm^3-Kölbchen werden bis zu $1^1/_2$ *cm* Höhe mit anorganischem Agar oder Gelatine gefüllt, sterilisiert und erkalten gelassen, darauf mit fünf Stichen Diatomeen in Kreuzesform eingetragen. Nach kurzer Zeit wandern die wachsenden »Auflagen« gegen das Licht.
2. Auf analog beschickte Kölbchen werden Diatomeen in einem Striche geimpft und dieser senkrecht zum Lichteinfall eingestellt. Die gelungene Kultur sieht wie gekämmt aus.

---

[1] M. Verworn, l. c., p. 46.
[2] P. Miquel, II., l. c., p. 166.
[3] Oswald Richter, l. c., p. 503.

3. Stichkulturen mit Agar oder Gelatine (vergl. Fig. 7, 8), ans Fenster gehängt, zeigen alsbald einen ganz einseitigen Bau und schicken ihre Diatomeenmassen, Strahlen gleich, gegen das einfallende Licht.

Eine besondere Erwähnung verdienen jene Fälle von Gelatinestrichkulturen, die, bei gleicher Beleuchtung wie die genannten Stichkulturen hängend, die Nitzschien büschelartig von dem einfallenden Lichte weg gegen das Zimmer hin wachsen ließen. Zunächst konnte natürlich in Anbetracht der zitierten Beobachtungen von Stahl[1] an negative Phototaxis gedacht werden.

Dabei mußte nur auffallen, daß die Nitzschien in den daneben hängenden Stichkulturen, wie schon bemerkt, gegen das einfallende Licht strebten. Betrachtete man nun solche Strichkulturen genauer, so war eine starke Konzentration des Lichtes durch die Gelatine an der der Lichtseite abgewendeten Eprouvettenseite zu bemerken. Was hier vorlag, war also wieder positive Phototaxis, nur hatten die Diatomeen zwischen zwei starken Lichtquellen die stärkere herauszufinden gewußt. Das gibt mir Gelegenheit, auf die interessante Arbeit von Chmielewsky[2] hinzuweisen, der nachgewiesen hat, daß das, was gewöhnlich als negative Phototaxis bezeichnet wird, als »scharf ausgedrückte Erscheinungen positiver Phototaxis« aufzufassen sei, eine Tatsache, die sich einfach daraus erklärt, daß man nie auf den Strahlengang im Hängetropfen Rücksicht genommen hat. Nach seinen Untersuchungen sind jetzt auch die Bemerkungen Stahl's und Verworn's über negative Phototaxis der Diatomeen fraglich geworden, bestimmt läßt sich nur das Eine sagen:

Die Diatomeen zeigen bei geeigneter Versuchsanstellung positive Phototaxis.

Da hier von Beziehungen der Diatomeen zum Lichte die Rede ist, möchte ich im Vorbeigehen die von Schütt,[3]

---

[1] E. Stahl, l. c., p. 38.

[2] V. Chmielewsky, Über Phototaxis und die physikalischen Eigenschaften im Kulturtropfen. Beil. z. bot. Z., Bd. XVI, 1904, H. 1, p. 62.

[3] F. Schütt, Die Peridineen der Planktonexpedition. Kiel und Leipzig, 1895, p. 110.

Karsten[1] und Benecke[2] bei Diatomeen beobachtete Reizplasmolyse erwähnen, die darin besteht, daß die genannten Algen auf Reize, z. B. den Lichtreiz, mit Zurückziehung des Plasmas reagieren.

Fassen wir sonach unsere derzeitigen Kenntnisse über die Lichtwirkung zusammen, so werden sie sich in den folgenden Sätzen kurz wiedergeben lassen:

1. Für die Diatomeen *Nitzschia Palea* und *Navicula minuscula* ist derzeit Licht zu ausgiebiger Entwicklung absolut notwendig. Für *Navicula perpusilla* soll es nach Karsten bei reichlicher organischer Ernährung entbehrlich sein.

2. Die geringe Wachstumsförderung und Zellvermehrung, die Karsten bei seinen Zählversuchen mit *Nitzschia Palea* in Dunkelkulturen feststellte und ich bei Gelatinedunkelkulturen von *Nitzschia Palea* und *Navicula minuscula* beobachtet habe, dürfte sich als durch physiologische Nachwirkung bedingt herausstellen.

3. Gefärbte wie farblose Diatomeen vertragen eine lange Verdunkelung ohne abzusterben.

4. Die braunen Diatomeen sind auf eine bestimmte Lichtintensität gestimmt, die als optimal bezeichnet werden kann.

5. In gelben Strahlen gedeihen die Diatomeen nach meinen Untersuchungen sehr gut; ob diese Strahlengattung die einzige ist, die ihr Gedeihen fördert, oder ob noch andere Strahlen als besonders günstig bezeichnet werden können, ist derzeit noch nicht einwandfrei ermittelt.

6. Die Diatomeen *Navicula* sp., *Navicula brevis, Stauroneïs* sp. zeigen nach Stahl's und Verworn's, gewisse andere nach Miquel's, *Nitzschia Palea* und *Navicula minuscula* nach meinen Untersuchungen zweifellos positive Phototaxis. Die negative ist durch einige meiner Experimente im Hinblick auf Chmielewsky's Arbeit fraglich geworden.

---

[1] G. Karsten, Die Diatomeen der Kieler Bucht. Wiss. Meeresunters., herausgeg. von der Komm. zur Unters. der deutschen Meere etc. Abt. Kiel. N. F., Bd. 4, 1899.

[2] W. Benecke, l. c., p. 554 bis 555.

XIV. Alter der Diatomeenkulturen.

Gelatinekulturen halten sich am längsten. Ist die Gelatine so weit verflüssigt, als der Stichkanal gereicht hat, so sintert die Diatomeenmenge langsam zusammen, immer verflüssigend, und sinkt dabei bis auf den Boden der Eprouvette; hier erhalten sich nun die Diatomeen jahrelang im Licht am Leben. Ich habe heute noch einige meiner ersten Reinkulturen, die noch völlig lebenskräftig aussehen.

Aber auch von Agarstichkulturen besitze ich welche vom 7. September 1904 und ich bin überzeugt, wenn ich die betreffenden Eprouvetten außer dem Wattepfropf, wie ich dies mit Anabänen und Oszillarienkulturen vor zwei Jahren getan habe, mit Kork und venetianischem Terpentin vor dem Austrocknen geschützt hätte, würde ich sie noch ebensolang erhalten können.

XV. Genügsamkeit der Diatomeen.

Das eben Erwähnte gibt einen Beweis für diese hervorragende Eigenschaft besonders der Nitzschien, eine Eigenschaft, die für eine ganze Menge von Versuchen vom Experimentator störend empfunden wird. Ein Agar, gut gewässert und mit den anorganischen Salzen versehen, ermöglicht bei Ausschluß von Stickstoff ein gutes Gedeihen. Die Spuren von Kieselsäure, die bei der Sterilisation aus dem Glase gelöst werden, reichen zur Entwicklung der Algen in Paraffingefäßen aus und dieselbe Genügsamkeit gestattet uns heute in der Ca-Frage noch kein abschließendes Urteil. Auch wird es nie gelingen, ein positives Auxanogramm zu erzeugen, wenn man nicht mit Berücksichtigung jener Eigenschaft zu einem Agar ohne jeden Zusatz greift. Daß man sich zweckentsprechende Gelatine ohne Salzzusatz erzeugen kann, erscheint darnach selbstverständlich.

Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse der vorliegenden Arbeit.

1. Vorläufig ist es für die Diatomee *Nitzschia Palea* (Kütz.) W. Sm. bewiesen, daß sie Kieselsäure unumgänglich notwendig hat.

2. Es ist sehr wahrscheinlich gemacht worden, daß sie und die Diatomee *Navicula minuscula* Grun. V. H. ohne Ca nicht auszukommen vermögen.

3. Magnesium ist in Übereinstimmung mit früher bereits mitgeteilten Befunden als notwendiger Nährstoff für *Nitzschia Palea* und *Navicula minuscula* erkannt worden.

4. Beide Diatomeen vermögen den organisch gebundenen Stickstoff zu assimilieren. Am besten eignet sich von den untersuchten organischen Stickstoffquellen Asparagin und Leucin. Freier Stickstoff wird von der *Navicula* sicher nicht, von der *Nitzschia Palea* wahrscheinlich nicht verwertet.

5. Beide rein gezüchtete Diatomeen werden im Lichte bei Darbietung gewisser organischer Substanzen ungemein gefördert, da sie die Fähigkeit besitzen, Kohlehydrate und höhere Alkohole zu verwerten.

6. Die beiden kultivierten Diatomeen kommen im Lichte auch ohne Sauerstoffzufuhr aus, da sie sich den O selbst zu erzeugen vermögen, scheinen aber trotzdem an eine bestimmte Sauerstoffzufuhr von außen angepaßt zu sein.

7. In Übereinstimmung mit Miquel's und Karsten's Befunden an Diatomeen und denen von Molisch für Grün- und Blaualgen wurde eine schwach alkalische Reaktion des Nährsubstrates als zweckmäßig erkannt.

8. Im Anschluß an frühere Experimente wurde festgestellt, daß sich die beiden Süßwasserdiatomeen bei den vorhandenen Versuchsbedingungen auch durch Gewöhnung an keinen höheren Kochsalzgehalt als einen zweiprozentigen anzupassen vermögen. $2^0/_0$ ClNa stellt also die obere Grenze für ihr Gedeihen vor. Andrerseits wurden Meeresformen bereits auf $1^0/_0$ ClNa-haltigem Agar gezogen.

9. Es gelang, durch Ca-Salze auf nährsalzfreiem gewässerten Agar positive, auf nährsalzhaltigem durch andere, nament-

lich sauer reagierende Stoffe negative Auxanogramme hervorzurufen.

10. Mit Hilfe der Auxanogrammethode konnte die oligodynamische Wirkung von Kupfer- und Nickelmünzen auf Diatomeen zur Anschauung gebracht werden.

11. Von Ausscheidungen der Diatomeen wurde Kohlensäure beobachtet, die sich durch Bildung von $CaCO_3$ in Ca-reichem Substrate verriet. Mit Sicherheit konnte festgestellt werden: ein gelatine- oder eiweiß- und ein agarlösendes Ferment. Das Gas, das in Gelatine- und Agarschüttelkulturen im Lichte beobachtet werden kann, ist der Hauptmasse nach höchstwahrscheinlich Sauerstoff.

12. Die kultivierten Diatomeen brauchen zu ihrer Entwicklung Licht, doch können sie eine monatelange Verdunklung ertragen. Die auch von Karsten beobachtete geringe Vermehrung im Dunkeln dürfte sich aus einer physiologischen Nachwirkung des Lichtes erklären. Die gelben Strahlen haben sich für das Gedeihen der Diatomeen sehr günstig erwiesen. Ob sie die einzigen günstig wirkenden Strahlen sind, bleibt noch zu untersuchen.

Zum Schlusse sei es mir gestattet, meinen Dank meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. H. Molisch, zu wiederholen für die gütige Überlassung der mit so viel Mühe gereinigten Nährsalze sowie für die vielen Anregungen, Winke und Ratschläge, die mir von seiner Seite zu teil wurden, dann aber meinem Freunde Franz Ruttner, Demonstrator des pflanzenphysiologischen Institutes, der mir durch seine Kunst im Photographieren ganz wesentliche Belege der Arbeitsergebnisse verschafft hat.

Figurenerklärung.

Tafel IV.

Fig. 1. Zwei Kölbchen mit Paraffinauskleidung
a) mit Kieselsäurezusatz,
b) ohne » vergl. Text p. 36.

Fig. 2. Ein Versuch mit Gelatine verschiedenen Kochsalzgehaltes, durchgeführt mit *Nitzschia Palea* (Strichkulturen):
Mit steigendem Kochsalzgehalte geringere Entwicklung.
2% ClNa gibt unter diesen Verhältnissen deren obere Grenze an. Vergl. Text p. 80.

Fig. 3. Wiedergabe des auf p. 100 beschriebenen Lichtversuches.

Tafel V.

Fig. 4 und 5. Darstellung des auf p. 69 beschriebenen Versuches über die Assimilation der Kohlehydrate und Alkohole durch Diatomeen.

Die Zahlen bedeuten: 1 Stammgelatine,
2 mit Erythritzusatz,
3 mit Mannitzusatz,
4 mit Dulzitzusatz,
5 mit Milchzuckerzusatz,
6 mit Traubenzuckerzusatz,
7 mit Lävulosezusatz,
8 mit Rohrzuckerzusatz,
9 mit Maltosezusatz,
10 mit Inulinzusatz und
11 mit Glyzerinzusatz.

Der in Fig. 4 dargestellte Versuch wurde mit *Nitzschia Palea*, der, den Fig. 5 wiedergibt, mit *Navicula minuscula* durchgeführt.

Wenn es in der Photographie Fig. 4 in 3) und 4) den Anschein gewinnt, als ob die Entwicklung in diesen Eprouvetten eine geringere wäre als in 1), so hat das seinen Grund darin, daß fast die ganze große Diatomeenmasse infolge der früher auftretenden Lösung der Gelatine heruntergerutscht und zusammengesintert ist und sich unten — in der Photographie sieht man tiefdunkle Stellen — angesammelt hat; vergl. Text p. 69 und 92.

Fig. 6. Stellt einen Versuch über Oligodynamie dar.
Soweit als die unendlich kleinen Mengen Nickel des Zwanzighellerstückes reichen, die sich im umgebenden Agar gelöst haben, sind alle bei der Impfung eingetragene Diatomeen abgestorben. Erst außerhalb dieser Giftzone ist üppige Entwicklung zu bemerken: ein negatives Auxanogramm; vergl. Text p. 85.

Fig. 7 und 8. Sollen in meiner ersten Arbeit noch nicht wiedergegebene Gelatinestichkulturen zeigen, den großen Unterschied derselben je nach der geimpften Diatomee klarmachen und sowohl zur Illustration der in solchen Kulturen sehr schön auftretenden Phototaxis (vergl. *Ni* und Text p. 110) als der fortschreitenden Gelatineverflüssigung dienen (vergl. Text p. 90). Wie die gleichalten Kulturen zeigen, ist diese bei der *Nitzschia Palea (Ni)* viel intensiver als bei der *Navicula minuscula (Na),* so daß man entweder von einem stärker peptonisierenden Fermente bei ihr sprechen kann oder von größeren in gleicher Zeit abgeschiedenen Mengen eines gleich starken.

Inhaltsangabe.

Vorversuche I–III über die Notwendi

I. Vorversuch
vom 25/X. 1903.

Stammlösung:
Molisch's Algennährlösung »Ca frei« mit 0·05 statt 0·2 gr $MgSO_4$ auf 1 L H_2O
d. h.: 1000 gr H_2O
0·2 „ KNO_3
0·2 „ K_2HPO_4
0·05 „ $MgSO_4$
Spur $FeSO_4$

d. Untersuchung: Tag	Jahr	ohne Paraffin				Paraffin aussen				Paraffin innen			
		A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
13/XI.	1903								•				
23/XI.	„								•				
19/XII.	„												
6/II.	1904												
23/III.	„												

Anm: Paraffin innen = Paraffinauskleidung.
Paraffin aussen = Paraffin-Mantel.
A, B, C, D, bedeuten die Kölbchen.

III. Vorversuch
vom 30/III. 1904.

Stammlösung:
vgl. II).

Tag d. Beobachtung	o Paraffin			Paraffin aussen			Paraffin innen			Glaspulver 0·5% 0·1% 0·05%			Quarzsand 0·5% 0·1% 0·05%			Phenolpht.			0·05
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A
6/IV.																			
11/IV.														•					
16/IV.														•					
20/IV.														•					
2/V.															•			•	
10/V.															•				
19/V.																			
6/VI.																			

Anm: Phenolpht. = eine Kölbchenreihe, be
gekochten dest. Wasse

...eit der Kieselsäure für die Diatomee Nitzschia Palea.

'orversuch
...m 29/II. 1904.
...mmlösung:
...000 gr H_2O
0·2 „ KNO_3
0·2 „ K_2HPO_4
·05 „ $MgSO_4$
Spur $FeSO_4$
→ *Ca frei* ←

Tag d. Beobachtung	ohne Paraffin			Paraffin aussen			Paraffin innen												Paraffinstücke II)		
							ster. b. 110°			ster. b. 70°			$+K_2Si_2O_5$ I)			+ "reiner Quarzsand					
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
11/III.																			•	P IV	
17/III.																				P	
30/III.																				P	
6/IV.																					
17/IV.																					
2/V.																					
7/V.																					
Glimmerproben	III)																				

Anm: I). ad $K_2Si_2O_5$ A erhielt 1 grösseres Stückchen $K_2Si_2O_5$
B „ 1 kleines „ „
C „ 2 „ „

II). Die Paraffinstücke wurden nicht sterilisiert.
III). zarte, dünne, kleine — dicke, grosse Diatomeenpanzer.
IV). P = Pilzrasen.

Paraffin innen																									Paraffin					
...O_5	0·01% $K_2Si_2O_5$			0·05% $Na_2Si_2O_5$			0·01% $Na_2Si_2O_5$			0·05% $CaSi_2O_5$			0·01% $CaSi_2O_5$			0·05% Magnesiumfluosilikat			0·05% Ammoniumfluosilikat			46°			58°					
C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C			

...* jedes Kölbchen mit 70 ccm Stammlösung 10 ccm in Glaskolben
...thielt, das eben die Phenolphtaleinprobe gab.

Lith. Anst. v. Th. Bannwarth, Wien.

Vorversuche I–III über die Notwendigkeit der Kieselsäure für die Diatomee Nitzschia Palea.

I. Vorversuch vom 25/X. 1903.

Stammlösung: Molisch's Algennährlösung »Ca frei« mit 0·05 statt 0·2 gr $MgSO_4$ auf 1 L H_2O

d. h.: 1000 gr H_2O
0·2 » KNO_3
0·2 » K_2HPO_4
0·05 » $MgSO_4$
Spur $FeSO_4$

d. Untersuchung Tag	Jahr	ohne Paraffin A	B	C	D	Paraffin aussen A	B	C	D	Paraffin innen A	B	C	D
13/XI.	1903												
23/XI.	"												
19/XII.	"												
6/II.	1904												
23/III.	"												

Anm.: Paraffin innen = Paraffinauskleidung.
Paraffin aussen = Paraffin-Mantel.
A, B, C, D, bedeuten die Kölbchen.

II. Vorversuch vom 29/II. 1904.

Stammlösung:
1000 gr H_2O
0·2 » KNO_3
0·2 » K_2HPO_4
0·05 » $MgSO_4$
Spur $FeSO_4$
»Ca frei«

Tag d. Beobachtung	ohne Paraffin A	B	C	Paraffin aussen A	B	C	Paraffin innen: ster. b. 110° A	B	C	ster. b. 70° A	B	C	$+K_2Si_2O_5$ I) A	B	C	+ "reiner" Quarzsand A	B	C	Paraffinstücke II) A	B	C
11/III.																				P[IV]	
17/III.																				P	
30/III.																				P	
6/IV.																					
17/IV.																					
2/V.																					
7/V.																					
Glimmerproben III)																					

Anm.: I). ad $K_2Si_2O_5$ A erhielt 1 grösseres Stückchen $K_2Si_2O_5$
B " 1 kleines " "
C " 2 " "

II). Die Paraffinstücke wurden nicht sterilisiert.
III). zarte, dünne, kleine — dicke, grosse Diatomeenpanzer.
IV). P = Pilzrasen.

III. Vorversuch vom 30/III. 1904.

Stammlösung: vgl. II).

Tag d. Beobachtung	o Paraffin A	B	C	Paraffin aussen A	B	C	Paraffin innen A	B	C	Paraffin innen: Glaspulver 0·5% A	0·1% B	0·05% C	Quarzsand 0·5% A	0·1% B	0·05% C	Phenolpht. A	B	C	0·05% $K_2Si_2O_5$ A	B	C	0·01% $K_2Si_2O_5$ A	B	C	0·05% $Na_2Si_2O_5$ A	B	C	0·01% $Na_2Si_2O_5$ A	B	C	0·05% $CaSi_2O_5$ A	B	C	0·01% $CaSi_2O_5$ A	B	C	0·05% Magnesiumfluosilikat A	B	C	0·05% Ammoniumfluosilikat A	B	C	Paraffin 46° A	B	C	Paraffin 58° A	B	C
6/IV.																																																			
11/IV.																																																			
16/IV.																																																			
20/IV.																																																			
2/V.																																																			
10/V.																																																			
19/V.																																																			
6/VI.																																																			

Anm.: Phenolpht. = eine Kölbchenreihe, bei der jedes Kölbchen mit 70 ccm Stammlösung 10 ccm in Glaskolben gekochten dest. Wassers enthielt, das eben die Phenolphtaleinprobe gab.

Lith. Anst. v. Th. Bannwarth, Wien.

Entscheidende Versuche

über die Notwendigkeit der Kieselsäure für die Diatomee Nitzschia Palea.

I. Versuch vom 13/V. 1904.
Stammlösung: 1000 H_2O dest. dest., 0·2 gr KNO_3, 0·2 " PK_2HPO_4, 0·05 " $MgSO_4$*, Spur $FeSO_4$*

II. Derselbe Versuch nach Neuimpfung am 13/VI. 1904.

III. Versuch vom 12/VII. 1904. *Stammlösung:* vgl. I.

IV. Versuch vom 7/VII. 1905.

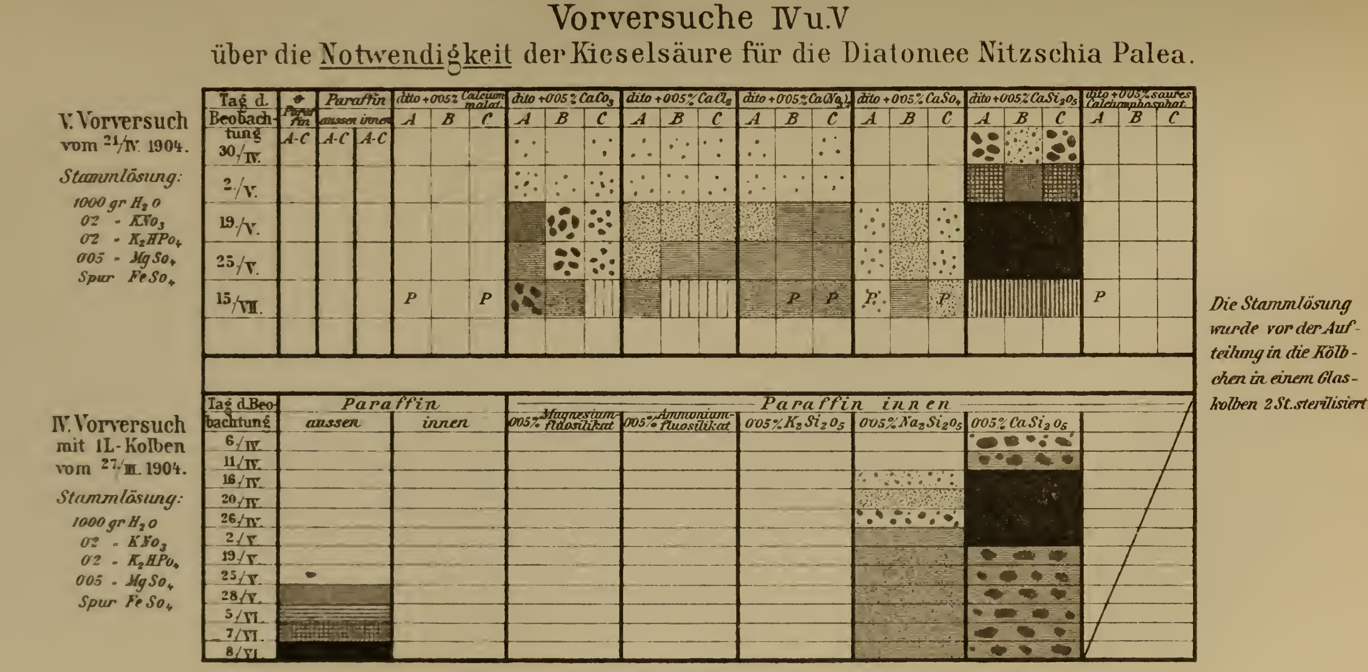
Tag d. Beobachtung	1) Stammlösung 0 Ca 0 Si O_2			2) 0 Ca + 0·01% $K_2Si_2O_5$			3) 0·01% $CaCO_3$			4) 0·01% $CaCl_2$			5) 0·01% $Ca(NO_3)_2$			6) 0·01% $CaSO_4$*			7) 0·01% $CaSi_2O_5$			8) 0·01% $CaSi_2O_5$ unter Paraffin		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
I. Versuch																								
25/V.																								
27/V.																								
29/V.																								
31/V.																								
13/VI.			P				P								P								P	P
II. Die am 13/VI. durchgef. Veränderungen				+0·01% $CaCO_3$			+0·01% $K_2Si_2O_5$			+0·01% $K_2Si_2O_5$			+0·01% $K_2Si_2O_5$			+0·01% $K_2Si_2O_5$			hier unterblieb die Neuimpfung			+0·01% $K_2Si_2O_5$		
15/VI.																								
20/VI.																								
21/VI.																	P							
22/VI.																	P							P
25/VI.																	P						P	P
30/VI.																	P						P	P
8/VIII.																	P					P	P	P
6/IX.																	P					P	P	P
17/IX.																	P					P	P	P
III. Versuch																								
8/VIII.																								
6/IX.																								

IV. Versuch

Tag d. Beobachtung	1) A	A	B	C	2) A	A	B	C	3) A	A	B	C	4) A	A	B	C	5) A	A	B	C	6) A	A	B	C	7) A	A	B	C	8) A	A	B	C
					+0·01% $CaCl_2$				+0·01% $K_2Si_2O_5$				+0·01% $K_2Si_2O_5$				+0·01% $K_2Si_2O_5$				+0·01% $K_2Si_2O_5$				+0·01% $K_2Si_2O_5$							
15/VII.																																

Vorversuche IV u. V

über die Notwendigkeit der Kieselsäure für die Diatomee Nitzschia Palea.



Die Stammlösung wurde vor der Aufteilung in die Kölbchen in einem Glaskolben 2 St. sterilisiert.

Anm: P-Pilzrasen, wurden vor der Neuimpfung in II entfernt.

** bezeichnet die Reagentien aus der Sammlung des Prof. Molisch.*

Lith. Anst. v. Th. Bannwarth, Wien

Entscheidende Versuche

über die Notwendigkeit der Kieselsäure für die Diatomee Nitzschia Palea.

I. Versuch vom 13/V. 1904.

Stammlösung:
1000 H_2O dest. dest.
0·2 gr KNO_3
0·2 " PK_2HPO_4
*0·05 " $MgSO_4$ **
*Spur $FeSO_4$ **

Tag d. Beobachtung	1) Stammlösung ∅ Ca ∅ SiO_2			2) ∅ Ca + 0·01% $K_2Si_2O_5$			3) 0·01% $CaCO_3$			4) 0·01% $CaCl_2$			5) 0·01% $Ca(NO_3)_2$			6) 0·01% $CaSO_4$ *			7) 0·01% $CaSi_2O_5$			8) 0·01% $CaSi_2O_5$ unter Paraffin		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
25/V.																								
27/V.																								
29/V.																								
31/V.																								
13/VI.			P				P								P								P	P

II. Derselbe Versuch nach Neuimpfung am 13/VI. 1904.

Die am 13/VI. durchgef. Veränderungen				+0·01% $CaCO_3$			+0·01% $K_2Si_2O_5$			+0·01% $K_2Si_2O_5$			+0·01% $K_2Si_2O_5$			+0·01% $K_2Si_2O_5$			hier unterblieb die Neuimpfung			+0·01% $K_2Si_2O_5$		
15/VI.																								
20/VI.																								
21/VI.																	P							
22/VI.																	P							P
25/VI.																	P						P	P
30/VI.																	P						P	P
8/VIII.																	P					P	P	P
6/IX.																	P					P	P	P
17/IX.																	P					P	P	P

III. Versuch vom 12/VII. 1904. *Stammlösung: vgl. I*

8/VIII.																								
6/IX.																								

IV. Versuch vom 7/VII. 1905. *Stammlösung: vgl. I*

	A	A	B	C	A	A	B	C	A	A	B	C	A	A	B	C	A	A	B	C	A	A	B	C	A	A	B	C	A	A	B	C
					+0·01% $CaCO_3$				+0·01% $K_2Si_2O_5$				+0·01% $K_2Si_2O_5$				+0·01% $K_2Si_2O_5$				+0·01% $K_2Si_2O_5$				+0·01% $K_2Si_2O_5$							
15/VII.																																
16/VIII.																																
9/X.																																
19/XII.																																

Vorversuche IV u. V

über die Notwendigkeit der Kieselsäure für die Diatomee Nitzschia Palea.

V. Vorversuch vom 21/IV. 1904.

Stammlösung:
1000 gr H_2O
0·2 " KNO_3
0·2 " K_2HPO_4
0·05 " $MgSO_4$
Spur $FeSO_4$

Tag d. Beobachtung	∅ Paraffin	Paraffin aussen	Paraffin innen	dito + 0·05% Calciummalat			dito + 0·05% $CaCO_3$			dito + 0·05% $CaCl_2$			dito + 0·05% $Ca(NO_3)_2$			dito + 0·05% $CaSO_4$			dito + 0·05% $CaSi_2O_5$			dito + 0·05% saures Calciumphosphat		
				A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
30/IV.	A-C	A-C	A-C																					
2/V.																								
19/V.																								
25/V.																								
15/VII.				P		P								P	P	P.		P				P		

Die Stammlösung wurde vor der Aufteilung in die Kölbchen in einem Glaskolben 2 St. sterilisiert.

IV. Vorversuch mit 1 L-Kolben vom 27/III. 1904.

Stammlösung:
1000 gr H_2O
0·2 " KNO_3
0·2 " K_2HPO_4
0·05 " $MgSO_4$
Spur $FeSO_4$

Tag d. Beobachtung	Paraffin aussen	Paraffin innen	Paraffin innen: 0·05% Magnesiumfluosilikat	Paraffin innen: 0·05% Ammoniumfluosilikat	Paraffin innen: 0·05% $K_2Si_2O_5$	Paraffin innen: 0·05% $Na_2Si_2O_5$	Paraffin innen: 0·05% $CaSi_2O_5$	
6/IV.								
11/IV.								
16/IV.								
20/IV.								
26/IV.								
2/V.								
19/V.								
25/V.								
28/V.								
5/VI.								
7/VI.								
8/VI.								

Anm: P = Pilzrasen, wurden vor der Neuimpfung in II entfernt.
** bezeichnet die Reagentien aus der Sammlung des Prof. Molisch.*

Lith. Anst. v. Th. Bannwarth, Wien.

Stickstoff-Versuche.

I. Versuch mit Nitzschia Palea vom 9/VI. 1904.

N-freie Stammlösung:
1000 cm³ H_2O dest
0·2 gr K_2HPO_4
0·05 - $MgSO_4$
Spur $FeSO_4$
0·05 % $CaSi_2O_5$ in Stücken in jedem Kolben.

Tag d. Beobachtung	Stammlösung A	Stammlösung B	Stammlösung C	Asparagin A-1	Asparagin B-5	Asparagin C-10	Leuzin A-1	Leuzin B-5	Leuzin C-10	Ammonium-karbonat A-1	Ammonium-karbonat B-5	Ammonium-karbonat C-10	Ammonium-chlorid A-1	Ammonium-chlorid B-5	Ammonium-chlorid C-10	Amm… A-1
14./VI.																
15./VI.																
17./VI.																
18./VI. 7 a.m.																
18./VI. 3 p.m.																
20./VI.																
21./VI.																
22./VI.																
23./VI.																
25./VI.																
30./VI.																
9./VIII.																
15./IX.																

II. Versuch mit Nitzschia Palea vom 5/VII. 1905.

N-freie Stammlösung:
1000 gr H_2O
0·2 - K_2HPO_4
0·05 - $MgSO_4$
0·2 - $CaCl_2$
0·01 - $K_2Si_2O_5$
(Spur $FeSO_4$ nicht erst zugesetzt)

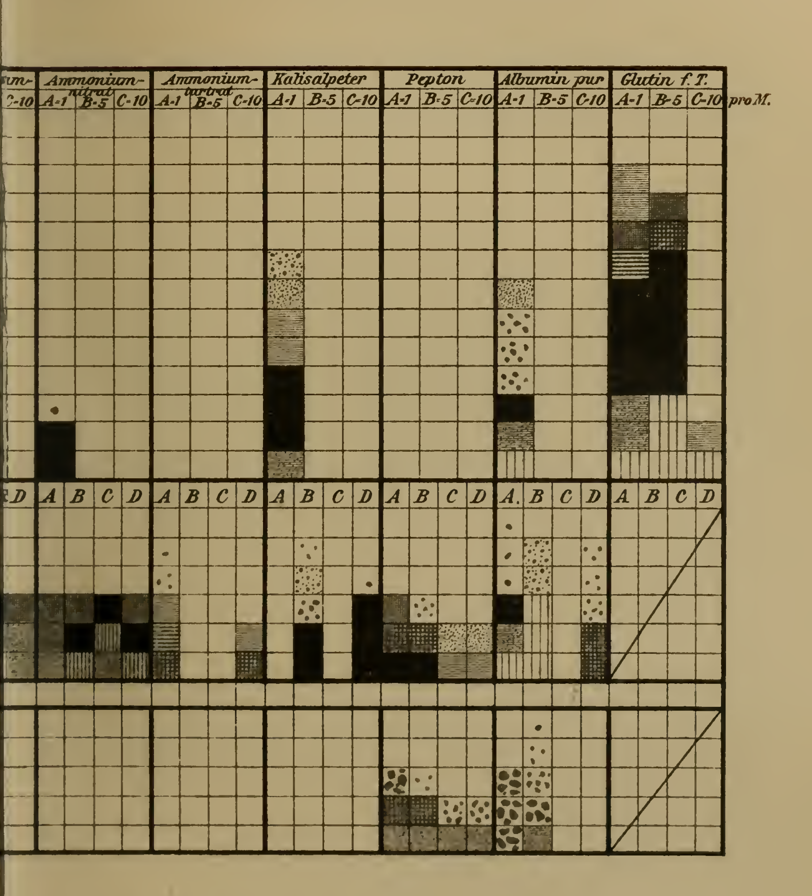
III. Versuch mit Navicula min. vom 5/VII. 1905.

Stammlös. wie bei II.

Tag d. Beobachtung	Stammlösung A	Stammlösung B	Stammlösung C	Stammlösung D	Asparagin A	Asparagin B	Asparagin C	Asparagin D	Leuzin A	Leuzin B	Leuzin C	Leuzin D	Ammonium-karbonat A	Ammonium-karbonat B	Ammonium-karbonat C	Ammonium-karbonat D	Ammonium-chlorid A	Ammonium-chlorid B	Ammonium-chlorid C	Ammonium-chlorid D	Amm… A	Amm… B
II.																						
8./VII.																						
10./VII.																						
11./VII.																						
16./VIII.																						
9./X.																						
21./XII.																						
III.																						
11./VII.																						
13./VII.																						
16./VIII.																						
9./X.																						
21./XII.																						

Anm: *ad I. 1, 5, 10 bedeutet 1, 5, 10 pro Mille des be…*
A, B, C, sind die Bezeichnungen der Kölb…

ad II u. III. A, B erhielten stets 0·1 %, C, D $\frac{n}{100}$…
Pepton wurde wegen der sonst zu b…
derum Werte gab, die 0·1 % nahe k…
Dabei war bei der Berechnung maß…
$C_{72}H_{112}N_{18}O_{22}S$ I) und II) in Ermangelun…
I). Husemann A. Die Pflanzenstoffe. B…
II) Dammer O. u. Rung F. Chemisches H…

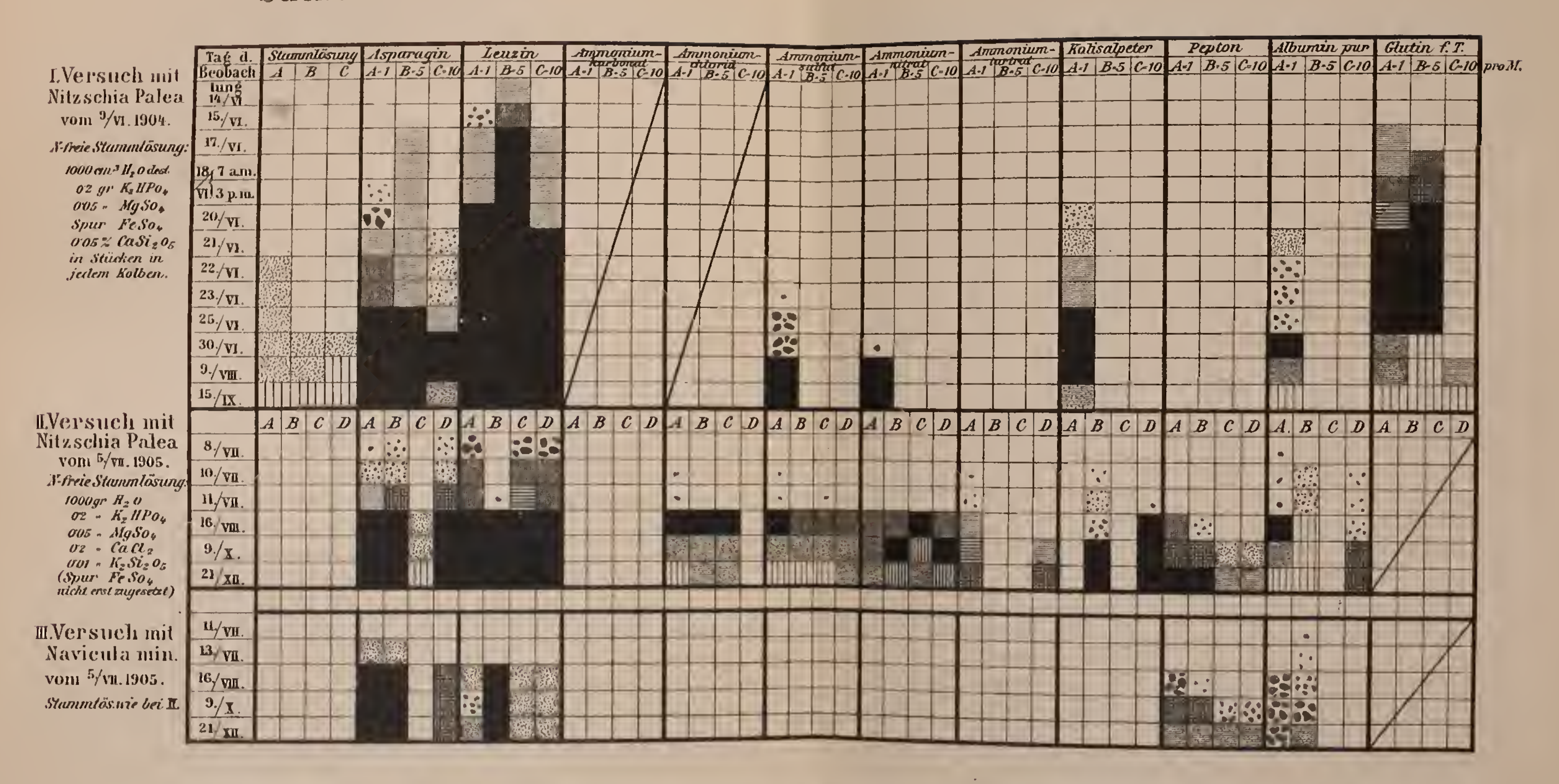


...fenden Stoffes. Das gilt auch bei den Kohlehydrat-Versuchen
...s.

... zugesetzten Körpers; nur beim Albumin und
...utenden Konzentration $\frac{n}{1000}$ verwendet, was wie-
...en
...end D die alte Lieberkühn'sche Formel für Eiweiss
...ner für Pepton die für Parapepton $C_{144}H_{224}N_{36}SO_{42}$ **)
...n 1882 S. 235.
...wörterbuch, Stuttgart 1892. S. 586 (Syntonin).

Lith. Anst. v. Th. Bannwarth, Wien

Stickstoff-Versuche.



Anm: ad I. 1, 5, 10 bedeutet 1, 5, 10 pro Mille des betreffenden Stoffes. Das gilt auch bei den Kohlehydrat-Versuchen A, B, C, sind die Bezeichnungen der Kölbchen.

ad II u. III. A, B erhielten stets 0·1 %; C, D $\frac{n}{100}$ des zugesetzten Körpers; nur beim Albumin und Pepton wurde wegen der sonst zu bedeutenden Konzentration $\frac{n}{1000}$ verwendet, was wiederum Werte gab, die 0·1 % nahe kamen.

Dabei war bei der Berechnung maßgebend I) die alte Lieberkühn'sche Formel für Eiweiss $C_{72}H_{112}N_{18}O_{22}S$ I) und II) in Ermangelung einer für Pepton die für Parapepton $C_{144}H_{224}N_{36}SO_{42}$ II)

I). Husemann A. Die Pflanzenstoffe. Berlin 1882 S. 235.

II) Dammer O. u. Rung F. Chemisches Handwörterbuch, Stuttgart 1892. S. 586 (Syntonin).

Lith. Anst. v. Th. Bannwarth, Wien.

Kohlehydrat-Alkohol-Versuche mit Nitzschia al

I. Versuch v. 29/II.–19/V. 1904.

Stammlösung:
1000 gr H_2O
0·2 · $K_2H.PO_4$
0·2 · $MgSO_4$
0·2 · KNO_3
Spur $FeSO_4$
" $CaSi_2O_5$

Tag der Beobachtung	1) Stammlösung A	B	C	2) Erythrit A=1	B=5	C=10	3) Mannit A=1	B=5	C=10	4) Dulzit-Melampyrit A=1	B=5	C=10	5) Milchzucker A=1	B=5	C=10	6) Traubenzucker A=1	B=5	C=10	7) … A=…
11/III.																			
17/III.																			
6/IV.																			
19./V.																			

II. Versuch v. 17/VI.–15/IX. 1904.

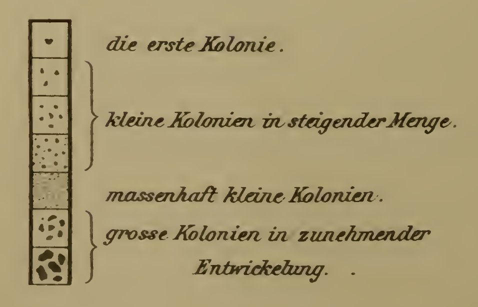
Stammlösung:
1000 gr H_2O
0·2 · $K_2H.PO_4$
0·05 · $MgSO_4$
0·2 · KNO_3
Spur $FeSO_4$
0·05 % $CaSi_2O_5$ in Stücken in jedem Kölbchen.

Tag der Beobachtung	1) Stammlösung A	B	C	2) Erythrit A=1	B=5	C=10	3) Mannit A=1	B=5	C=10	4) Dulzit-Melampyrit A=1	B=5	C=10	5) Milchzucker A=1	B=5	C=10	6) Traubenzucker A=1	B=5	C=10	7) … A=…
21/VI.																			
22/VI.																			
23/VI.																			
25/VI.																			
30./VI.																			
9./VIII.																			
15./IX.																			

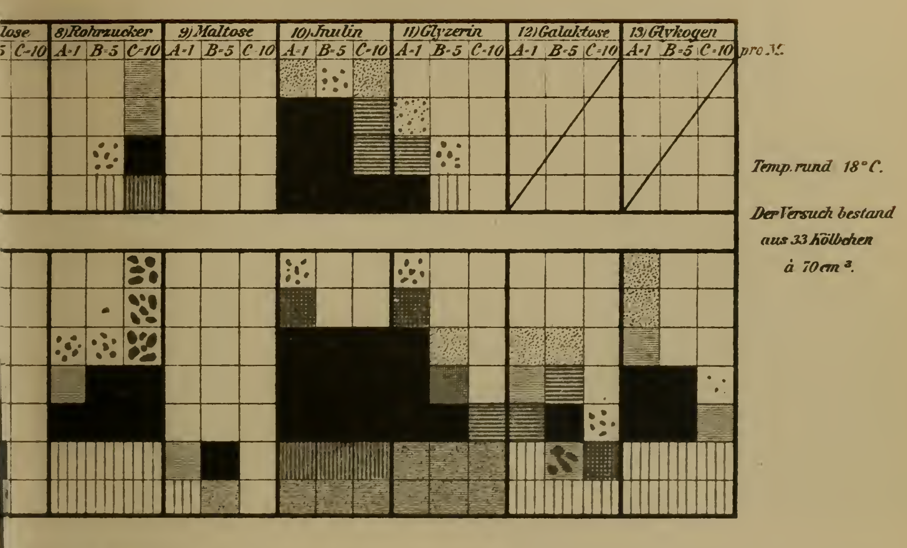
Anm.: A, B, C bezeichnen die Kölbchen

Zeichenerkl

Unterblieb in einer Versuchsreihe die Aufstellung einer durch
so wurde dies in der entsprechenden Kolumne durch einen schräge



lea.



...nd 1, 5, 10 heißt 1, 5, 10 p.M.

...rung:

...ie Überschriften in den Tabellen bezeichneten Kölbchenkolonne,
...trich von links unten nach rechts oben angedeutet.

entsprechend dem tieferen Schraffentone zunehmende Diatomeenentwickelung.

Maximum derselben.

von da ab Rückgang der Kulturen.

mit Diatomeen besiedelte $Ca\,Si_2\,O_5$-Stücke als Lebensquellen.

keine Diatomeenentwicklung

Lith. Anst. v. Th. Bannwarth, Wien.

Kohlehydrat-Alkohol-Versuche mit Nitzschia Palea.

I. Versuch v. 29/II.–19/V. 1904.

Stammlösung: 1000 gr H_2O, 02 - K_2HPo_4, 02 - $MgSo_4$, 02 - KNo_3, Spur $FeSo_4$ + $CaSi_2O_5$

II. Versuch v. 17/VI.–15/IX. 1904.

Stammlösung: 1000 gr H_2O, 02 - K_2HPo_4, 005 - $MgSo_4$, 02 - KNo_3, Spur $FeSo_4$, 0·05% $CaSi_2O_5$ in Stücken in jedem Kölbchen.

Tag der Beobachtung	1) Stammlösung			2) Erythrit			3) Mannit			4) Dulzit-Melampyrit			5) Milchzucker			6) Traubenzucker			7) Laevulose			8) Rohrzucker			9) Maltose			10) Inulin			11) Glyzerin			12) Galaktose			13) Glykogen		
	A	B	C	A-1	B-5	C-10	A-1	B-5	C-10	A-1	B-5	C-10	A-1	B-5	C-10	A-1	B-5	C-10	A-1	B-5	C-10	A-1	B-5	C-10	A-1	B-5	C-10	A-1	B-5	C-10	A-1	B-5	C-10	A-1	B-5	C-10	A-1	B-5	C-10
I. Versuch																																							
11/III.																																							
17/III.																																							
6/IV.																																							
19/V.																																							
II. Versuch																																							
21/VI.																																							
22/VI.																																							
23/VI.																																							
25/VI.																																							
30/VI.																																							
9/VIII.																																							
15/IX.																																							

pro M.

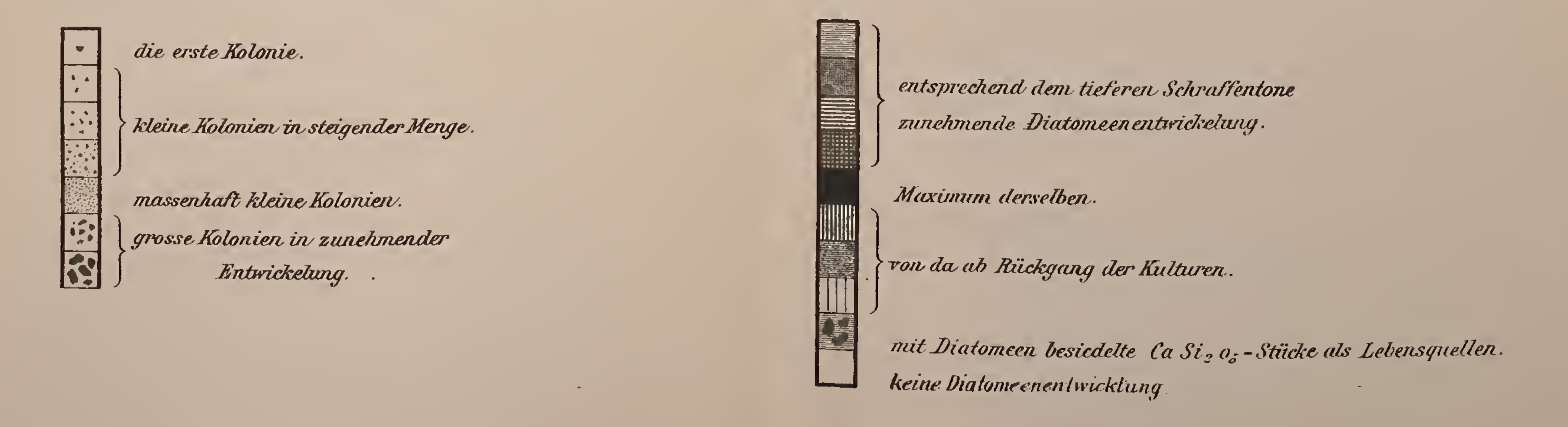
Temp. rund 18°C.

Der Versuch bestand aus 33 Kölbchen à 70 cm³.

Anm: A, B, C bezeichnen die Kölbchen, und 1, 5, 10 heißt 1, 5, 10 p.M.

Zeichenerklärung:

Unterblieb in einer Versuchsreihe die Aufstellung einer durch die Überschriften in den Tabellen bezeichneten Kölbchenkolonne, so wurde dies in der entsprechenden Kolumne durch einen schrägen Strich von links unten nach rechts oben angedeutet.



Lith. Anst. v. Th. Bannwarth, Wien.



Fig. 1.

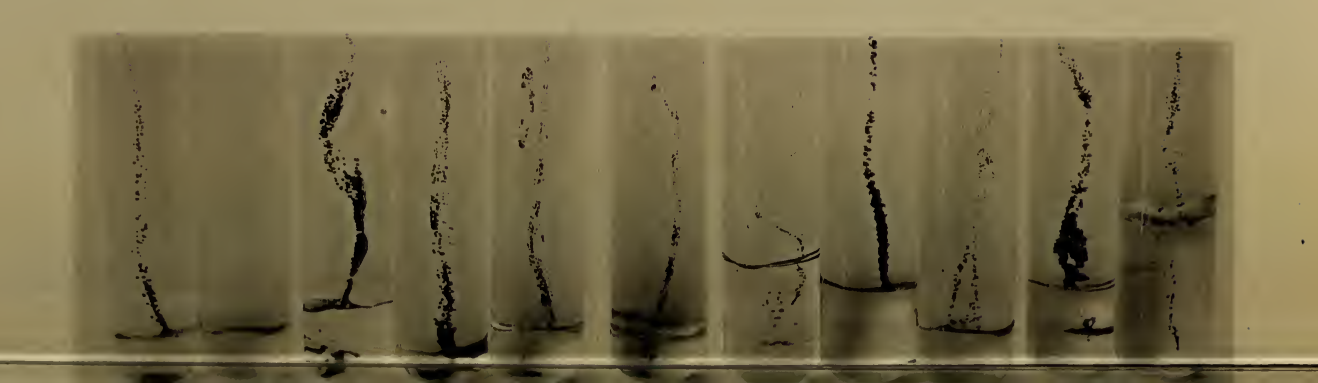
Fig. 2.

Fig. 3.

Lichtdruck v. Max Jaffé, Wien

1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9. 10. 11.

Fig. 4.





1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9. 10. 11.

Fig. 5.

Fig. 7.

Na Ni

Fig. 3.

Fig. 8.

Na Ni

Lichtdruck v. Max Jaffé, Wien

Sitzungsberichte d. kais. Akad. d. Wiss., math.-naturw. Klasse, Bd. CXV., Abt. I. 1906.

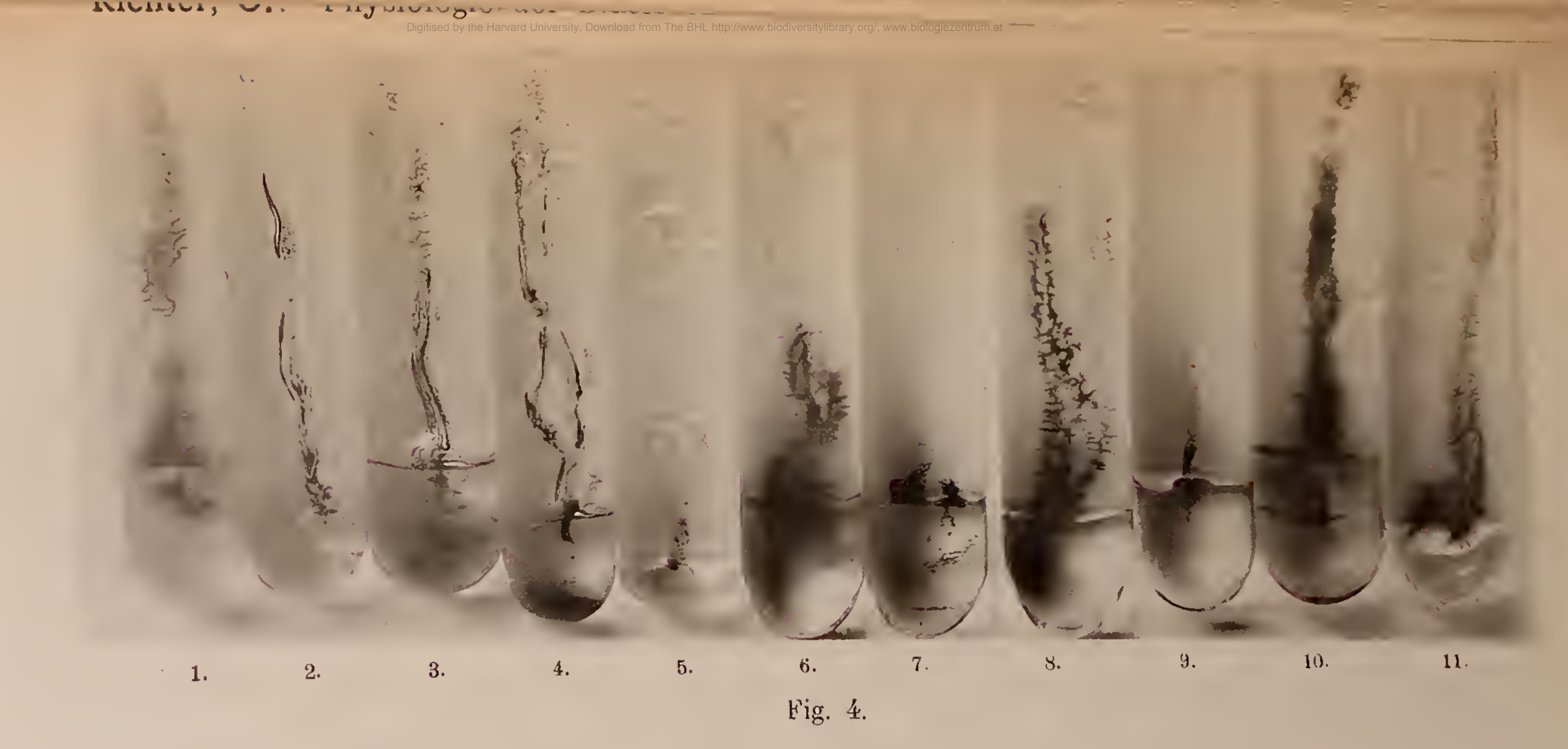


Fig. 4.

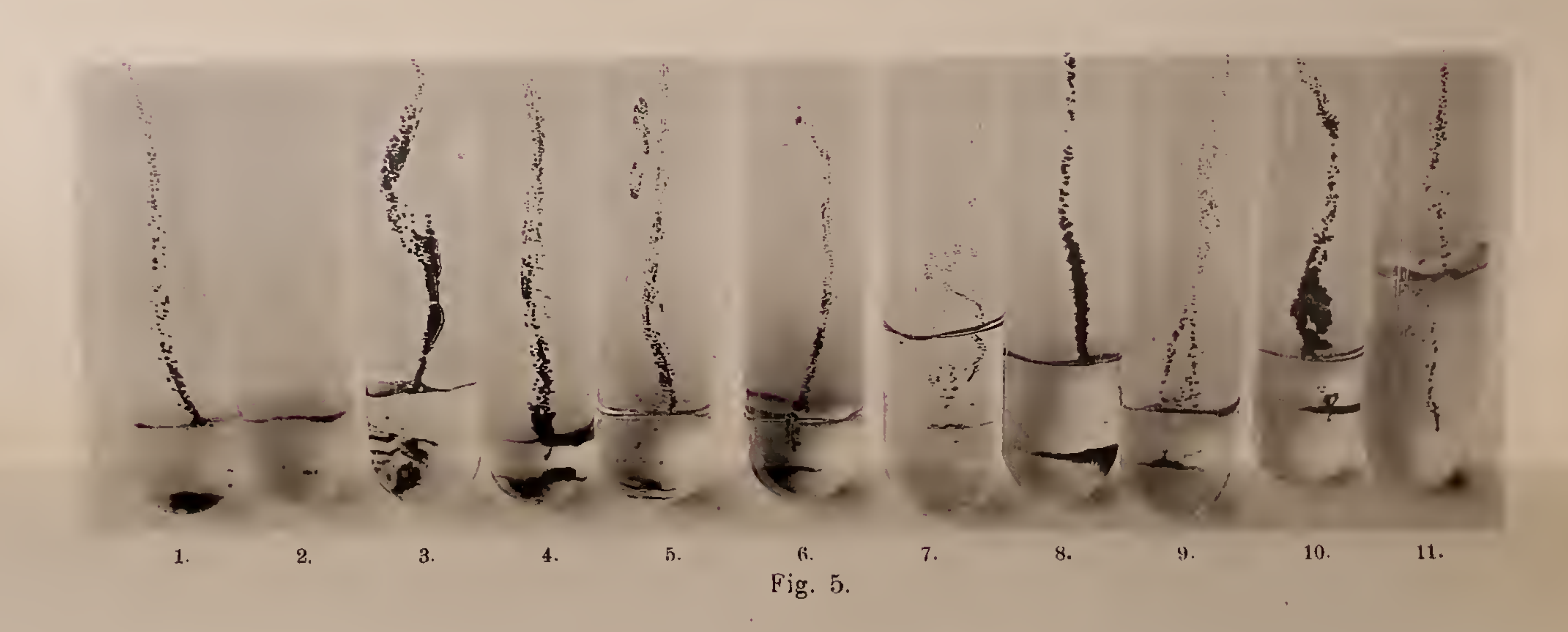


Fig. 5.

Fig. 7.

Fig. 8.



Fig. 3.

Lichtdruck v. Max Jaffé, Wien